Aus der Hals - Nasen - Ohren - Klinik
der Universität Düsseldorf

Direktor: Professor Dr. K.H. Vosteen

Untersuchungen zur Wachstumsverzögerung eines xenotransplantierten menschlichen Plattenepithelcarcinoms nach subkurativer Einzeitbestrahlung.

Dissertation
Zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Zahnmedizin

Der Medizinischen Fakultät der
Universität Düsseldorf
vorgelegt von

Reinhold Müller
1983

Aus der Hals - Nasen - Ohren - Klinik
der Universität Düsseldorf

Direktor: Professor Dr. K.H. Vosteen

Untersuchungen zur Wachstumsverzögerung eines xenotransplantierten menschlichen Plattenepithelcarcinoms nach subkurativer Einzeitbestrahlung.

Dissertation
Zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Zahnmedizin

Der Medizinischen Fakultät der
Universität Düsseldorf
vorgelegt von

Reinhold Müller
1983

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität Düsseldorf

Der Dekan
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf
gez.: Prof.Dr. Brüster

Referent
gez.: Priv.-Doz.Dr. Lindenberge

Korreferent
gez.: Prof. Dr. Schübel

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	
1.1 Vorwort	1
1.2 Fragestellung	7
1.3 Zur Strahlenbiologie experimenteller Tumormodelle und deren quantitativer Auswertung	8
1.4 Die nu / nu - Maus als Versuchstier	14
1.5 Transplantation von menschlichen Tumoren	17
1.6 Bestrahlung mit Misonidazol (Ro-07-0582)	21
2. Material und Methode	
2.1 Tierhaltung	26
2.2 Versuchstumor	27
2.3 Transplantationstechnik	28
2.4 Messung der Tumore	29
2.5 Bestrahlung der Tumore	31
2.6 Auswertung und Normierung der Wachstumskurven	33
2.7 Versuchsaufbau	35
3. Ergebnisse	
3.1 Wachstumskurven	38
3.2 Dosiseffektkurven	57
4. Diskussion der Ergebnisse	62
5. Zusammenfassung	67
6. Literaturverzeichnis	

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543909_0070

1. Einleitung

1.1 Vorwort

Xenotransplantierte menschliche Tumore in thymusaplastischen sogenannten Nacktmäusen eignen sich als Modell zur Untersuchung der Strahlenwirkung auf Tumorgewebe außerhalb des menschlichen Körpers. Die erstmals von FLANAGAN im Jahre 1966 beschriebene Mäusemutante weist auf Grund einer kongenitalen Thymusaplasie eine Schwächung des immunologischen Abwehrsystemes auf. Der Immundefekt verhindert die Entstehung funktioneller T - Lymphozyten, so daß sowohl eine zelluläre Immunantwort als auch eine durch T - Zellen vermittelte Induktion von B - Zellen ausbleiben muß (SALOMON und BAZIN, 1972; RYGAARD, 1973; BLOEMMEN und EYSSEN, 1973). Die Fähigkeit der Maus, Fremdtransplantate zu tolerieren, eröffnet die Möglichkeit, Tumore des Menschen erfolgreich und dauerhaft auf Nacktmäuse zu transplantieren. Seit RYGAARD und POVLSEN 1969 erstmalig über die Transplantation eines menschlichen Adenokazinoms des Colon berichten konnten, beschäftigten sich viele Arbeitsgruppen unter verschiedensten Fragestellungen it transplantablen menschlichen Tumoren ("Bibliography of the Nude Mouse 1966 - 1976" RYGAARD und POVLSEN, 1977:"The Nude Mouse in experimental and clinical research FOGH und GIOVANELLI, 1978; "Thymus aplastic Nude Mice and Rats in Clinical Oncology" BASTERT; FORTMEYER,

SCHMIDT-MATHIESEN, 1981)

Xenotransplantierte Tumore aus dem Kopf - Hals - Bereich stehen seit 1977 zur Verfügung und werden seit dieser Zeit vor allem unter dem Aspekt tumorbiologischer Fragestellungen untersucht (LINDENBERGER und GANZER, 1977a, 1977b; LINDENBERGER, 1981; AFFELDT und KURTH 1982; GANZER und FORTMEYER, 1978; NENSA, 1979).

Neben dem chirurgischen Vorgehen stellt die radiologische Strahlentherapie die wichtigste nicht chirurgische Maßnahme bei Malignomen des HNO - Bereiches dar, so daß Aussagen über die Strahlenempfindlichkeit eines Tumors von größter Bedeutung sind. Seitdem H. HOLTHUSEN in den 20iger Jahren eine Abhängigkeit zwischen biologischer Strahlenwirkung und Sauerstoffspannung des Gewebes nachwies, konnte an zahlreichen Beispielen der günstige Einfluß des Sauerstoffs, als sogenannter Sauerstoffeffekt, auf die Wirksamkeit locker ionisierender Strahlen bestätigt werden (HOLTHUSEN, 1921; PETRY, 1923; MOTTRAM, 1936; READ, 1952; GRAY et al., 1953). Bei der Strahlenanwendung stellt sich ein Sauerstoffeffekt nur dann ein, wenn eine gute Sauerstoffversorgung genau während der Bestrahlung gewährleistet ist (WRIGHT und HOWARD-FLANDERS, 1957; HOWARD-FLANDERS und MOORE, 1958; MICHAEL, ADAMS et al., 1973), und eine Sauerstoffkonzentration von mindestens 40 mm Hg - was einer Sauerstoffspannung des venösen Blutes entspricht - erreicht werden kann. Trägt man die Wirksamkeit einer gegebenen Dosis gegen die Sauerstoff-

konzentration auf, und setzt die relative Wirksamkeit in Anoxie gleich 1, so erhält man Kurven, die bis zum Erreichen des venösen Sauerstoffdruckes von ca. 40 mm Hg sehr steil ansteigen und bereits eine relative Strahlenempfindlichkeit des dreifachen Ausgangswertes erreichen, während eine weitere Erhöhung des Sauerstoffangebotes die Sensibilität nur noch unbedeutend zu erhöhen vermag (HALL, 1978).

Die Bedeutung des Sauerstoffeffektes für die Strahlentherapie maligner Tumore wird bei Betrachtung der Gefäß- und Bindegewebestruktur eines Tumores verständlich, da jeder Tumor nach Überschreiten einer bestimmten Größe Bereiche enthält, die auf Grund einer unzureichenden Gefäßversorgung hypoxische Zellen enthalten, die bei extremem Sauerstoffmangel der Nekrose anheimfallen (THOMLINSON und GRAY, 1956; GRAY, 1953, 1961 1965; WILSON, 1961; MUNRO und GILBERT, 1967; TANNOCK, 1968).

Bereits in einem Abstand von 150 bis 200 µm zu einer Kapillare fällt die Sauerstoffspannung im Gewebe derart ab, daß mit einer starken Hypoxie oder gar Anoxie des entsprechenden Tumorgebietes gerechnet werden muß (THOMLINSON und GRAY, 1955; THOMLINSON, 1968), was im Hinblick auf eine Strahlentherapie mit locker ionisierenden Strahlen einen Wirkungsverlust durch erhöhte Strahlenresistenz der Zellen bedeutet. Andererseits erzeugt die Anwesenheit von Sauerstoff eine Verstärkung der Strahlenwirkung um den gleichen Betrag, weshalb der Begriff des Sauerstoffverstärkungsfaktors

(OER = oxygen enhancement ratio) in die Literatur aufgenommen wurde und als das Verhältnis der Strahlendosen definiert ist, die benötigt werden, um den gleichen Strahleneffekt in sauerstoffreien und sauerstoffreichen Zellen zu erzielen. Für verschiedene biologische Zellsysteme konnte bei Verwendung von Röntgenstrahlen ein Verstärkungsfaktor zwischen 2,5 und 3 ermittelt werden (HALL et al., 1966a; NIAS et al., 1967; HALL, 1969a; BERRY et al., 1970; ELKLIND et al., 1965b; BELLI und ROACH, 1968).

Da der Sauerstoffeffekt vorwiegend auf der Bildung freier Radikale und chemischer Endprodukte der Wasserradiolyse, die unter der Einwirkung locker ionisierender Strahlen auftreten, beruht, ist man bemüht, die Radikalausbeute auch unter hypoxischen Bedingungen zu erhöhen oder qualitativ zu verändern:

Erste Bemühungen, die Strahlensensibilität in anoxischen Tumorgebieten durch Bestrahlung in Sauerstoffüberdruck von 2 bis 3 atü zu erhöhen (CHURCHILL-DAVIDSON et al., 1955; THOMLINSON und GRAY, 1955; DU SAULT, 1963), zeigten jedoch, daß der Sauerstoff bei derartiger Dosierung toxisch wirkte, indem er zu peripherer Vasokonstriktion führte, so daß es trotz des erhöhten Sauerstoffangebotes zu einem Blutminderangebot kam und sich kein therapeutischer Gewinn einstellen konnte (LAMBERTSON, 1966; MILNE et al., 1973).

Nachdem eine Abhängigkeit des Sauerstoffverstärkungsfaktors von der Strahlenqualität (LET = Linear Energy Transfer) ermittelt wurde - mit zunehmender LET der Strahlung nimmt der Sauerstoffeffekt ab - (BARENDSEN

et al., 1966; 1971; TODD, 1967; FEOLA et al., 1969; BERRY, 1970) wird versucht, die Strahlentherapie durch Anwendung dicht ionisierender Strahlen zu verbessern, da die anoxischen Zellen ihnen gegenüber annähernd die gleiche Strahlenempfindlichkeit haben wie euoxische Zellen. Nach einem Vorschlag von ALPER und MOORE (1967) wird das Verhältnis des OER locker ionisierender Strahlen zum OER von Strahlungen höheren LET's als therapeutischer Gewinnfaktor (therapeutic gain factor) bezeichnet, da er ein Maß für die effektive Inaktivierung anoxischer Zellen durch die jeweilige Strahlenart ist. Für verschiedene Zellkulturen konnte bei Verwendung von Neutronen ein therapeutischer Gewinnfaktor zwischen 1,5 und 1,7 erzielt werden (NIAS et al., 1967; HALL, 1969a; SCHNEIDER und WHITMORE, 1963; BERRY et al.,1965).

Ein weiterer Versuch, dem Problem der strahlenresistenteren anoxischen Zellen zu begegnen, stellt die Suche nach chemischen Substanzen dar, die ähnlich wie Sauerstoff Zellen zu sensibilisieren vermögen, und deren Wirkung auf ähnlichen Mechanismen beruhen. Eine Reihe von Substanzen ist in den letzten Jahren gefunden und experimentell untersucht worden. Zu den vielversprechendsten Radiosensibilisatoren gehören die sogenannten Nitromidazole, deren bekannteste Vertreter das Metronidazol (Flagyl^{R}) und das noch wirksamere Ro-07-0582 (Misonidazol^{R}) sind. Trotz einer geringeren Effizienz der Sensibilatoren im Vergleich zu Sauerstoff sind sie wegen ihres größeren Diffusionsvermögens und längerer

Metabolisationszeiten letztendlich als weit wirksamer anzusprechen (HALL, 1978; ADAMS, 1977). Entsprechend dem Sauerstoffverstärkungsfaktor kann für jede als Sensibilisator wirkende chemische Substanz ein Verstärkungsfaktor (enhancement ratio = ER) angegeben werden, der als Quotient der Strahlendosen definiert ist, die bei Abwesenheit und Anwesenheit eines Pharmakons die gleiche biologische Wirkung zeigen. Der Verstärkungsfaktor gilt als Maß für den strahlensensibilisierenden Effekt einer Substanz und bietet somit die Möglichkeit, ihre pharmakologische Wirkung quantitativ zu erfassen. Nach bisher veröffentlichten Untersuchungen konnten in Abhängigkeit vom jeweiligen Versuchsmodell bzw. Zellmaterial für das Misonidazol ER-Werte von 1,5 bis 2,5 errechnet werden (ADAMS, 1978 in Cancer 6, Tabelle S. 205).

Konnte bisher der strahlensensibilisierende Effekt von Radiosensibilisatoren nur an tierexperimentellen Tumoren studiert werden, so bietet sich mit dem Modell xenotransplantierter menschlicher Tumore die Gelegenheit, das Misonidazol auch bei einem Plattenepithelkarzinom des HNO - Bereiches anzuwenden.

1.2 Fragestellung

Diese Arbeit beschäftigt sich daher mit der Wirkung einer Einzeitbestrahlung auf ein xenotransplantiertes menschliches Carcinom des HNO - Bereiches. Von Interesse war die Dosiswirkung durch Bestrahlung unter ambienten und hypoxischen Bedingungen, sowie nach Gabe des Zellsensitizers Misonidazol.

1.3 Zur Strahlenbiologie experimenteller Tumormodelle und deren quantitative Auswertung

Die kurative Strahlentherapie maligner Tumore unter Anwendung locker ionisierender Strahlen beruht im wesentlichen auf der Inaktivierung proliferationsfähiger Zellen, wobei unter Inaktivierung die irreversible Zerstörung der Proliferationsfähigkeit einer Zelle oder aller ihrer Nachkommen zu verstehen ist. Während bei niedrigen Dosen die Fähigkeit zur Zellteilung erst nach mehreren Teilungen verzögert abnimmt, sterben bei wesentlich höheren Dosen die Zellen unmittelbar und unabhängig von der jeweiligen Zellteilungsphase (Interphasetod). Die Inaktivierungsrate proliferierender Zellen bzw. die Überlebensrate nicht inaktivierter Zellen läßt sich seit den grundlegenden Arbeiten von PUCK und seinen Mitarbeitern (1955 bis 1957) dadurch bestimmen, daß man eine bestimmte Anzahl bestrahlter Zellen auf einem geeigneten Nährboden aussät und nach einer bestimmten Zeit die Zahl der durch wiederholte Zellteilung entstandenen Kolonien auszählt. PUCK und MARCUS (1955) beobachteten an HeLa - Zellen, daß Größe und Anzahl der Kolonien mit steigender Strahlendosis abnahmen, was sich an allen bisher im Experiment untersuchten teilungsfähigen Zellen verschiedenster Gewebe von Säugetieren einschließlich des Menschen bestätigen ließ.

Trägt man bei halblogarithmischer Darstellung die Überlebensrate als Funktion der Strahlendosis auf, so ergeben sich für locker ionisierende Strahlen charakteristische Dosiswirkungskurven, die im kleinen Dosisbereich mit einer endlichen Neigung (Schulter) beginnen und bei

steigender Dosis an Steigung zunehmen, bis sie schließlich in eine Gerade übergehen; dies bedeutet, daß die Strahlenwirkung bei kleinen Dosen relativ geringer ist als bei höheren.

Die Problematik eines in vivo Modelles mit tumortragenden Versuchstieren ergibt sich aus der Tatsache, daß bei Bestrahlung der Tumore in subkurativen Dosisbereichen keine quantitativ faßbare Zellpopulation zur Verfügung steht, sondern ausschließlich das Tumorvolumen als verwertbare Meßgröße Anwendung finden kann.

THOMLINSON und CRADDOCK (1967) entwickelten an Hand des Fibrosarkoms Rib 5 der Ratte eine Methode, mit der auch das Wachstumsverhalten transplantabler Tumore untersucht werden kann. Sie zeigte, daß die Zeitspanne, die ein Tumor benötigt, um nach seiner Bestrahlung wieder die Ausgangsgröße oder ein Vielfaches davon zu erreichen, dosisabhängig ist. Das Zeitintervall wurde als Wachstumsverzögerung (regrowth delay assay) definiert und hat sich für Behandlungsmodalitäten eines in situ Tumor - Modelles als geeignete Meßgröße erwiesen.

In Abänderung der ursprünglichen Dosiswirkungskurven findet an Stelle der Überlebensrate die Wachstumsverzögerung Eingang in das Ordinatensystem.

Zur Ermittlung der Wachstumsverzögerung in Abhängigkeit von der Strahlendosis dienen sogenannte Wachstumskurven, durch die Volumenveränderungen eines Tumors vor und nach Bestrahlung graphisch dargestellt werden.

Die Möglichkeit, das Tumorwachstum dreidimensional zu erfassen, bietet ein Versuchsmodell, bei dem mensch-

liche Tumore subkutan in die seitliche Thoraxwand einer Maus verpflanzt werden und somit während des Wachstums einer ständigen Beobachtung unterzogen werden können. Unter der Voraussetzung, daß eine Bestrahlung der Tumore mit subkurativen Dosen erfolgt, zeichnen sich die Wachstumskurven durch einen charakteristischen Verlauf aus: kurz nach der Strahlentherapie eines Tumors nimmt das Volumen des Gewebes ab, um nach dieser Regressionsphase in Abhängigkeit von der applizierten Dosis allmählich bis zum Ausgangswert und darüber hinaus zuzunehmen.

Der Wiederanstieg des Tumorwachstums, der als Rezidiv des durch die Therapie geschädigten Gewebes zu verstehen ist, liefert die Werte für die Wachstumsverzögerung, die als Grundlage zur Erstellung der Dosiswirkungskurven dienen.

Da es bei der Anwendung niedriger Dosen häufig nicht zur Tumorschrumpfung kommt, beschreibt der Begriff des Rezidivs auch eine vorübergehende Größenabnahme bzw. ein Stagnieren des Wachstums. Für die Festlegung einer Wachstumsverzögerung ergibt sich damit die Notwendigkeit, ein Vielfaches des Ausgangsvolumen als Bezugswert festzulegen, um verfälschende initiale Volumenschwankungen verschiedenster Ursachen unberücksichtigt zu lassen und eine rein durch echte Zellproliferation zustandegekommene Volumengröße zu erhalten.

Die bisher an Dosiseffektkurven über Messung der Zellüberlebensrate ermittelte Abhängigkeit des Kurvenverlaufes von der Sauerstoffspannung des Gewebes während einer Bestrahlung mit locker ionisierenden Strahlen

konnte auch für alle bis heute durchgeführten tierexperimentellen Versuche an in situ Modellen bestätigt werden (THOMLINSON und CRADDOCK, 1967; DENEKAMP und HARRIS, 1975; SCHLECHTWEG, 1978; AFFELDT und KURTH, 1982).

Bei dem Vergleich von Wachstumskurven zeigte sich, daß die Tumorwachstumsverzögerung bei Mäusen, die während der Strahlungsbehandlung Luft atmeten größer war als die der Tumore, die durch einfaches Abklemmen anoxisch gemacht wurden.

Die bei Einzeitbestrahlung mit gleichen Strahlendosen gewonnenen Werte der Wachstumsverzögerung dienen als Grundlage zur Erstellung der Dosiswirkungskurven und zeigen den Behandlungsmodalitäten entsprechende Charakteristika: die anoxische Kurve hat von Beginn an einen exponentiellen Anstieg mit weiter Schulter und ständig zunehmender Steigung, während die Dosiswirkungskurve für Bestrahlung in Luft einen biphasischen Verlauf zeigt, deren erster Teil relativ steil ansteigt, um nach Ausbildung einer Schulter mit konstanter vertikaler Verschiebung parallel zur anoxischen Kurve zu enden. Der von THOMLINSON und CRADDOCK beschriebende biphasische Verlauf konnte in ähnlicher Form bei den meisten untersuchten Tumorsystemen nachgewiesen werden (DENEKAMP und HARRIS, 1976; KUMMERMEHR und TROTT, 1977; MCNALLY, 1973; THOMLINSON und CRADDOCK, 1967; AFFELDT und KURTH, 1982) und wird bei zellulärer Interpre ation als Strahlen-

reaktion einer gemischten, aus euoxischen und anoxischen bestehenden Zellpopulation gedeutet. Der relativ steile Anstieg für den Bereich niedriger Strahlendosen spräche für eine hohe Strahlensensibilität, die bei guter Sauerstoffversorgung der Zellen - euoxische Zellen - gegeben ist. Bei höheren Dosen kann davon ausgegangen werden, daß keine euoxischen Zellen überleben, und der flache Teil der Kurve somit durch eine Zellfraktion bestimmt wird, die ein besonders resistentes Verhalten gegenüber Strahlen aufweisen. Da bei hohen Dosen eine zunehmende Annäherung der Kurve der in Luft bestrahlten Tumore zur anoxischen Kurve stattfindet, schloß man auf das Vorhandensein anoxischer Zellen, die in diesem Bereich das Verhalten des Tumors wesentlich bestimmen.
Wenn bereits niedrige Strahlendosen das Abtöten der euoxischen Zellen bewirken, ließe sich das Auftreten eines Tumorrezidivs mit der Proliferation hypoxischer Zellen erklären, die nach Überleben einer Strahlentherapie wieder eine bessere Sauerstoffversorgung erlangen. Dieser Vorgang wird als Reoxygenierung bezeichnet und ist immerhalb von 8 - 24 Stunden nach der Bestrahlung abgeschlossen (VAN PUTTEN, 1968), ohne daß es zu einer zusätzlichen Proliferation des den Tumor umgebenden Stromas kommen muß.
Der Nachweis einer hypoxischen Zellfraktion, deren Anteil sich in der Größenordnung von 1% bis 50% bewegt, gelang an einer Vielzahl tierexperimenteller Tumoren (DENEKAMP und FOWLER, 1977; in "Cancer 6", Tabelle I,

Seite 106).
Durch die Interpretation der Dosiseffektkurve als eine Zellüberlebenskurve bietet sich die Möglichkeit, bei Extrapolation des flachen Kurvenanteiles auf die Ordinate, die Größe der anoxischen Zellfraktion zu bestimmen, sofern als Ordinatenwert die Zellüberlebensrate eingeht (THOMLINSON und CRADDOCK, 1967; MCNALLY, 1973).

Auch für die Zeitgröße der Wachstumsverzögerung gilt, daß sie von der überlebenden Zellfraktion bzw. deren Proliferation und Wachstumsgeschwindigkeit abhängt, wenn sie als ein Vielfaches der normalen Tumorzellverdopplungszeit der Überlebensfraktion betrachtet wird.
Das Tumorverhalten nach Bestrahlung wird weiterhin durch das ebenfalls mitbestrahlte Tumorbett beeinflußt, da das den Tumor umgebende Stroma eine Schädigung erfährt und so zu einer Wachstumsbeschränkung des Tumors führt (HEWITT und BLAKE, 1968; AFFELDT und KURTH, 1982). Bei Betrachtung der gemittelten Wachstumskurven deutet die verminderte Rezidivwachstumsgeschwindigkeit - gemessen an der Zeit, die der Tumor benötigt, um sein Volumen zu verdoppel (Tumorverdopplungszeit = TD) - auf einen Stromaschaden hin.

1.4 Die nu / nu - Maus als Versuchstier

Von den bisher in der tierexperimentellen Forschung bekannten haarlosen Mäusemutanten unterscheidet sich die von FLANAGAN (1966) erstmals näher beschriebene und seitdem als "nude" ("nu") bezeichnete Mutante durch zwei Merkmale: Zum einen ist die nu / nu - Maus von Geburt an haarlos, zum anderen weisen homozygote Tiere keinen Thymus auf.

Die vermeintliche Haarlosigkeit erklärt sich durch eine anormale Keratinisierung des Haarschaftes bei nachfolgendem Abbrechen des Haares unmittelbar über der Hautoberfläche (FLANAGAN, 1966; RIGDON und PACKCHANIAN, 1974).

Während PANTELOURIS noch 1968 von einer Thymuslosigkeit sprach, zeigten neuere Untersuchungen (PANTELOURIS und HAIR, 1970; WORTIS et al., 1971; CORDIER , 1974b; FUKUDA et al., 1974; GROSCURTH et al., 1974; HAIR, 1974; HOLUB et al., 1974) das Vorhandensein von rudimentären Thymusanteilen mit fast vollständigem Fehlen lymphatischer Strukturen. Die Aplasie bedingt, daß es zu keiner Induktion der kompetenten T - Vorläuferzelle ("T cell progenitors", "prethymic cells") kommt, und die Maus somit über keine funktionellen T - Zellen verfügt. Dieser Befund korreliert mit den gleichzeitig auftretenden hohen Werten von "natural killer cells" ("NK") vor allem in der Milz: nach Untersuchungen von HOLDEN (1978) und TAMAOKI (1981) sind diese identisch mit den "prethymic cells" und lassen sich in derart großer Zahl kaum in Heterozygoten oder Nichtmutantenträger finden.

Während das Fehlen immunkompetenter T - Zellen die Heterotransplantation ermöglicht, bedingt die Wirkung der NK - Zellen eine Beschränkung der tierexperimentellen Studien mit Tumortransplantaten. Nach Transplantation von Tumorzellen läßt sich zudem ein Booster - Effekt auf die NK - Zellen nachweisen (TOKUNAGA und YAMAMOTO, 1977; HOLDEN et al.; 1978; BALDWIN und PIMM, 1981), der letztlich durch die zelleigenen Abwehrmechanismen eine Verpflanzung von Tumorgewebe verhindern kann..

Weitere Wesensmerkmale der "nu / nu" - Maus sind: Gestörte Granulo- und Haemopoese (ZIPORI und TRAININ, 1973; HOLUB et al., 1974) und lymphozytäre Verarmung in der Milz bei völligem Fehlen von Keimzentren (DE SOUSA, 1969). Während in der Milz kein quantitativer Unterschied zwischen B - und T - Zellen besteht, weisen Lymphknoten generell eine verminderte Zellzahl der thymusabhängigen Lymphozyten auf (DE SOUSA et al., 1969; PANTELOURIS und HAIR, 1970; DE SOUSA et al., 1974; TAMAOKI und ESAKI, 1974).

Das geschwächte Immunsystem macht die nu / nu - Maus in erhöhtem Maße anfällig auch für fakultativ pathogene Keime. Die Maus reagiert in der Regel bei Erkrankungen mit allmählichem Gewichtsverlust als Ausdruck eines vorzeitigen, stark beschleunigten Alterungsprozesses, der nach PANTELOURIS (1972, 1973) als "wasting - disease - like" - Syndrom bezeichnet wird. Dieser Prozeß ist durch die Unfähigkeit der Maus, IgG - Antikör-

per zu bilden zu erklären, während es gleichzeitig durch eine pathologische Akkumulation von IgM - Antikörpern zu Autoimmunreaktionen kommt, die letztlich die Ursache für den vorzeitigen Alterungsprozeß darstellen.

Neben dem "wasting" - Syndrom, das die experimentelle Arbeit mit der Nacktmaus am stärksten einschränkt, treten häufig Infektionserkrankungen wie Hepatitis (FLANAGAN, 1966) und Colitis mit Prolaps recti (SILVERMAN et al., 1979; BIENIEK und TOBERMEYER, 1976; BARTHOLD et al., 1977) auf.
Bedingt durch das Fehlen der Wimpern und der damit verbundenen Schutzlosigkeit der Augen kommt es gehäuft zu Konjunktividen mit nachfolgenden Abszessen insbesondere im retrobulbärem Bereich.

1.5 Transplantation von menschlichen Tumoren

Da die thymusabhängigen Anteile des Immunsystemes zur Transplantatabstoßung führen, bietet die thymusaplastische Nacktmaus die Voraussetzung für tierexperimentelle Studien an menschlichen Tumoren. Hierbei erweisen sich maligne Tumore als die weitaus aussichtsreichsten Gewebe zur erfolgreichen Transplantation (OHSAWA et al., 1977). Wenn auch die Angehrate der verschiedenen Malignome differieren, so weisen generell Tumorgewebe aus Metastasen höhere Transplantationserfolge auf als entsprechende Gewebe aus dem Primärtumor (SHARKEY et al., 1978; FOGH et al., 1981).

Um die Erfolgsaussichten einer Transplantation zu erhöhen, sollten in jedem Fall optimale Tierhaltungs- und Ernährungsbedingungen angestrebt werden, da hierdurch nicht nur das Angehen der Tumortransplantate sondern auch ein späteres Wachstum beeinflußt werden kann (FORTMEYER, 1981). Den entscheidensten Einfluß auf das Tumorwachstum scheint jedoch das Lebensalter der Empfängermäuse auszuüben: so lassen bei ohnehin geringer Angehrate in ältere Tiere eingepflanzte Gewebe eine kleinere Wachstumsrate erwarten (FORTMEYER, 1981; BADER et al., 1981).

Aus diesem Grund wurden für die vorliegenden Versuchsreihen nur 6 bis 10 Wochen alte Tiere verwendet, um annähernd gleiche Versuchsbedingungen zu schaffen.

Überträgt man nun Tumorzellen auf eine nu / nu - Maus, so werden die "natural killer cells" geboostert, was

ein weiterer Grund für Mißerfolge bei Transplantationsversuchen zu sein scheint (TOKUNAGA und YAMAMOTO, 1977; HOLDEN et al., 1978; BALDWIN und PIMM, 1981). Insbesondere virusinduzierte Tumore sollen von diesem Effekt betroffen sein (BURTON et al., 1977; REID et al., 1978, 1981; KIM et al., 1981), wobei es keine Rolle spielt, ob der Tumor eine Virusgenese hat, oder er erst sekundär virusinfiziert worden ist.
Um die schädliche Wirkung der NK - Zellen auf die Transplantate abzuschwächen, bediente man sich zahlreicher immunsuppressiver Maßnahmen wie Zytostatikabehandlung (HOLDEN et al., 1978), Gabe von Interferon (REID et al., 1981), oder Vorbehandlung mit Antilymphozytenserum (GIOVANELLI und FOGH, 1978) und konnte so die Erfolgsrate für Transplantationen deutlich erhöhen.

Ist die Transplantation gelungen, so geht zunächst ein Großteil des Tumorgewebes zugrunde, da die Zellen nur per diffusionem ernährt werden; dies bedeutet, daß randständige Zellen die größeren Überlebensmöglichkeiten haben (BASTERT et al., 1981), und die Transplantate deshalb eine möglichst große Oberfläche haben sollten, wie dies mit flachen Gewebescheiben bei subkutaner Einpflanzung erfüllt ist.
Hat das Tumorgewebe Anschluß an das Gefäßsystem der Maus gefunden, so wächst der Tumor unter Ausbildung einer Stromakapsel expansiv bis zu einer Größe, bei der das gefäßführende Bindegewebe der Maus die Tumor-

masse nicht mehr zu ernähren verma , so daß es zur Ausbildung von zentral gelegenen Nekrosen kommt.
Der Tumor wächst in der Regel abgekapselt und nicht invasiv (GIOVANELLI et al., 1972; TAGUCHI et al., 1977), so daß er stets auf seiner Unterlage verschieblich bleibt und einer quantitativen Ausmessung zugängig bleibt.
Entscheidend für die Beurteilung tierexperimenteller Studien an menschlichen Xenotransplantaten ist die Übereinstimmung des Originaltumors mit dem in der Versuchsmaus gewachsenen Tumors auch nach mehreren Tierpassagen. Viele Autoren (POVLSEN und RYGAARD, 1971; POVLSEN, 1976, 1981; GROSCURTH und KISTLER, 1977; VISFELDT et al., 1972; HELSON et al., 1975; KIM et al., 1976; SHIMOSATO, et al., 1976; BASTERT et al., 1977; LINDENBERGER und GANZER, 1977a, 1977b; LINDENBERGER, 1981) konnten eine Übereinstimmung bei der Betrachtung morphologischer, biochemischer, immunologischer und proliferationskinetischer Fragestellungen nachweisen, bzw. Wesensunterschiede herausstellen: so nehmen im Tumortransplantat die Stromaanteile sowie - wenn vorhanden - lymphozytäre Infiltrate ab (CARREL et al., 1976; LINDENBERGER et al., 1978; SHARKEY et al., 1978). Nach Untersuchungen von SHARKEY und BAINES-GREBNER (1981) sowie MATTERN et al., (1981) liegt die Mitoserate der Transplantate im Mittel um den Faktor 2,5 höher.
Gelingt es, den Tumor über mehrere Passagen zu erhalten - dies entscheidet sich in der Regel nach der 3. Passage

(FOGH et al., 1981) - so bleibt die Gleichartigkeit des Gewebes, unabhängig von der Anzahl der Transplantationen gewahrt (VISFELDT et al., 1972; POVLSEN et al., 1973; BASTERT,1977b; SHIN et al., 1977; IKEDA et al., 1978; GIOVANELLA und FOGH, 1978).

1.6 Bestrahlung mit Misonidazol (Ro-07-0582)

Die Problematik der herabgesetzten Strahlensensibilität hyp- bzw. anoxischer Zellen ließ nach neuen Methoden zur Verbesserung der Strahlentherapie suchen: eine Möglichkeit bieten die sogenannten chemischen "Radiosensitizer", die ähnlich wie Sauerstoff Zellen zu sensibilisieren vermögen, aber weder schnell metabolisiert werden, noch ein so geringes Diffusionsvermögen wie Sauerstoff besitzen, so daß auch hypoxische Bereiche eines Tumores durch die Anwesenheit des "Radiosensitizers" einer effektiveren Strahlentherapie zugeführt werden können.

Die Sauerstoffversorgung in gefäßnahen Gebieten des Tumorparenchyms ist ausreichend, während bereits in einem Abstand von 150μm bis 200μm von einem Gefäß die Sauerstoffspannung derart abfällt, daß der strahlentherapeutische Effekt vermindert wird.

Die Hauptursache für die verstärkte Wirkung von Strahlen in Anwesenheit von Sauerstoff beruht auf der Bildung von Peroxiden innerhalb der Zelle, die durch eine Reaktion der bei der Strahlung entstehenden Radiolyseprodukte mit Sauerstoff entstehen (HUG und TROTT, 1980).

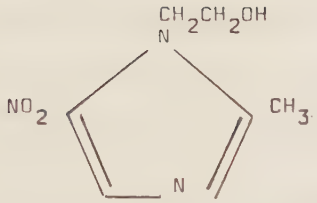
Die Anwesenheit von Radiosensibilisatoren in hypoxischen Zellen bewirkt wahrscheinlich ähnliche Mechanismen wie der Sauerstoff in euoxischen Zellen: durch die Fähigkeit der chemischen Sensibilisatoren, Elektronen zu binden, kommt es zu chemischen Reaktionen mit den durch die Strahlenwirkung erzeugten Radikalen, die einerseits

durch direkte Einwirkung von Strahlen oder indirekt über Radiolyseprodukte des Wassers entstehen können (ADAMS, 1968; WILSON und EMMERSON, 1970; GREENSTOCK et al., 1970, 1973; CHAPMAN et al., 1973a, 1974; WILSON et al., 1974).

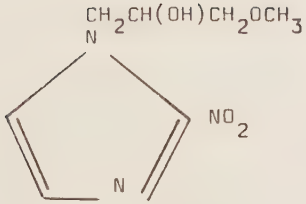
Bei der Suche nach geeigneten chemischen Verbindungen erwiesen sich die sogenannten Nitromidazole als erfolgreich. Durch Substituierung der Seitenketten der Grundstruktur läßt sich die Elektronenwirksamkeit der Substanzen erhöhen, wie dies im Falle des sogannten Misonidazol (Ro-07-0582, Roche Products Ltd.) erreicht wurde.

Die Einführung einer Nitrogruppe $-No_2$ als Seitenkette brachte in Abhängigkeit von der Stellung innerhalb der Grundstruktur eine Erhöhung der Elektronenaffinität mit sich. Strahlenchemische Untersuchungen (WILLIAMS et al., 1975; GREENSTOCK et al., 1976) wiesen das 2 - Nitromidazol - bekannt als Misonidazol - als chemisch wirksamer aus als das Metronidazol, auch Flagyl genannt, dessen Nitrogruppe die Position 5 innerhalb der nitroheterozyklischen Verbindung einnimmt.

In vitro Versuche über die strahlenbiologische Wirksamkeit verschiedener Radiosensibilisatoren in Abhängigkeit von ihrer Konzentration bestätigten die Überlegenheit des Misonidazols, da gezeigt werden konnte, daß zur Erzielung der gleichen Strahlenwirkung höhere Konzentrationen an Metronidazol vonnöten sind (ADAMS et al., 1976).



Metronidazol



Ro - 07 - 0582

Entsprechende Ergebnisse zeigten sich auch bei Anwendung der beiden Nitoimidazole am CaNT - Tiertumor, der bei einer Versuchsreihe auf CBA - Mäuse transplantiert und einer Einzeitbestrahlung unterzogen wurde. Die durch die Strahlung bewirkte Wachstumsverzögerung des Tumors zeigte bei zusätzlicher Verabreichung der beiden Sensibilisatoren eine deutliche Verstärkung, wobei die Tumorgruppe, die mit Misonidazol behandelt wurde, eine größere Strahlenempfindlichkeit aufwies (DENEKAMP und HARRIS, 1975).

Mit der Arbeit von ROFSTAD und BRUSTAD (1978) liegen die ersten Ergebnisse über die Wirkung der Sensibilisatoren am menschlichen malignen Melanom vor, das zum Zwecke des Tierexperimentes in thymuslose Nacktmäuse transplantiert wurde. Es konnte in Übereinstimmung mit den an Tiertumoren gewonnenen Erkenntnissen eine verstärkte Wachstumsverzögerung - bei deutlich stärkerem Effekt durch Misonidazol - nach Anwendung der Pharmaka im Ver-

gleich zu reiner Strahlentherapie festgestellt werden.

Wegen der durchweg günstigeren Resultate für das Misonidazol wurde dieses Mittel weiteren Prüfungen unterzogen, die auch im Hinblick auf eine mögliche klinische Anwendung von Belang sein könnten.

Von entscheidender Bedeutung für die Kurabilität von Tumoren ist der Anteil hypoxischer Zellen im Gewebe (GRAY et al., 1953; HEWITT et al., 1967; THOMLINSON, 1960; KALLMANN, 1972; THOMLINSON und GRAY, 1955), da sie im Vergleich mit Zellen von guter Sauerstoffversorgung eine größere Strahlenresistenz aufweisen. Es stellte sich heraus, daß 2 - Nitroimidazol nicht nur den normalerweise im Gewebe bestehenden Anteil anoxischer Zellen zu sensibilisieren vermag, sondern auch in der Lage ist, Tumore, die bei experimentell erzeugter Anoxizität fast ausschließlich aus mit Sauerstoff minderversorgten Zellen bestehen, günstig zu beeinflussen (DENEKAMP und HARRIS, 1975; ADAMS et al., 1976). Dieser Befund wird durch die Erkenntnis bestätigt, daß bei Erstellung einer Dosiseffektkurve der typisch biphasisch verlaufende Kurventeil für normal mit Sauerstoff versorgtes Tumorgewebe nach Behandlung mit Misonidazol seinen flachen Schulteranteil verliert. Unter Annahme einer relativ strahlenresistenten Zellfraktion, die für den flachen Teil der Kurve verantwortlich ist, erklärt sich der insgesamt steilere Verlauf der Kurve für mit Misonidazol behandelte Tumore durch eine Sensibilisierung eben die-

ser hypoxischen Zellen (THOMLINSON und CRADDOCK, 1967; DENEKAMP und HARRIS, 1975).

Um quantifizierbare Aussagen über Radiosensibilisatoren zu gewinnen, bedient man sich analog zum strahlentherapeutisch fördernden Sauerstoffeffekt der Größe eines Verstärkungsfaktors (enhancement ratio = ER).

Unter Zugrundelegung verschieden gewählter Meßgrößen zur Bestimmung eines erzielten Strahlenschadens (Zellüberlebensrate, Wachstumsverzögerung, Tumorheilung, etc.) konnte von vielen Autoren ein Verstärkungsfaktor für Misonidazol zwischen 1,5 und 2,5 bestimmt werden.

2. Material und Methode

2.1 Tierhaltung

Die hohe Infektionsanfälligkeit und Haarlosigkeit machen besondere hygienische und klimatische Maßnahmen erforderlich, um Zucht und Haltung der Tiere zu ermöglichen. Die Tiere der vorliegenden Versuchsreihen waren in der Tierversuchsanlage der Universität Düsseldorf in vollklimatisierten und filterbelüfteten Räumen bei einer Temperatur von 26°C und einer Luftfeuchtigkeit von 65% untergebracht.

Als Nahrung erhielten die Tiere die Standard - Diät "Altromin 1410" der Firma Altromin.

Das Trinkwasser, das mit 1N - HCL auf einen pH von 2,5 eingestellt wurde, enthielt neben Kaliumsorbat (1,35g/l) folgende antibiotische Zusätze:

	g / l
Oxytetracyclin (Celasin®, Boehringer)	0,3
Ampicillin / Oxacillin (Totocillin®, Bayer)	0,3
Cephalexin (Oracef®, Lilly)	

Für den Einstreu ergab sich die Forderung, nur weitgehend entstaubtes Material zu verwenden (Fa. Altromin), um dadurch Augenerkrankungen weitestgehend vorzubeugen. Durch die oben beschriebenen hygienischen und klimatischen Maßnahmen läßt sich bei einer Maus, die nicht dem Tierexperiment unterzogen wird, eine Lebenserwartung von ca. 6 bis 8 Monaten erzielen.

2.2 Versuchstumor

Als Versuchstumor diente ein leicht verhornendes Plattenepithelkarzinom des Mundbodens und der Speicheldrüsen. Der Patient wurde im Juli 1977 einer operativen Behandlung unterzogen.

Einen Monat später wurde eine Bestrahlungstherapie (Betatron 2 MeV - ultraharte Rö - Strahen) bis zu einer Gesamtdosis von 4000 rad mit einer Teilsynchronisation mittels 5 - Fluor - Uracil^{R}, Roche (2 x 2 Amp. 5 - FU, 3 x wöchentlich, was einer Tagesdosis von ca. 15 mg/KG entspricht) kombiniert.

2.3 Transplantationstechnik

Zu Beginn einer Versuchsreihe wurde zunächst eine gesunde Spendermaus mit noch solidem, d.h. weitestgehend nicht nekrotischem Tumor ausgewählt. Die Maus wurde in Äthernarkose eingeschläfert und der Tumor unter sterilen Kautelen entnommen.

Nach Entfernung nekrotischer Gewebeanteile und mauseigener Stromaanteil wurde der Tumor in flache Scheiben von ca. 1 mm Dicke und ca. 2 mm Länge bzw. Breite zerteilt und sofort in das auf 4°C gekühlte Nährmedium "L - 15 ohne $NaHCO_3$ (Boehringer) eingebracht.

Das so gewonnene Transplantatmaterial konnte dann in gesunde, gleichaltrige Empfängertiere an der lateralen Thoraxwand, bei weiblichen Tieren in der Nähe der Milchleistenstränge, nach Präparation einer subkutanen Tasche verpflanzt werden. Je nach Anzahl der zur Versuchsreihe benötigten Tiere dauerte die Transplantation nie länger als eine halbe Stunde.

Die der Wundrandadaptation dienenden Klammern sind nach ca. 4 Tagen entfernt worden; zu diesem Zeitpunkt konnten die Tumorstücke als flache Erhabenheiten unter der Mäusehaut palpiert werden.

Wenn auch Infektionskrankheiten und "wasting" - Syndrom häufig zu vorzeitigem Versuchsabbruch führten, konnte in keinem Fall ein Mißerfolg bei der Transplantation beobachtet werden.

2.4 Messung der Tumore

Etwa nach 2 Wochen konnte ein Tumorknoten unter der Haut palpiert werden, so daß eine regelmäßige Messung (2 x wöchentlich) mittels einer Schieblehre durchgeführt werden konnte.

Da der Tumor grundsätzlich auf seiner Unterlage verschieblich bleibt, und die Haut bei Zunahme der Tumorgröße an Elastizität gewinnt, bietet sich die Gelegenheit einer dreidimensionalen Messung des Transplantates.

Unter der Annahme einer halbellipsoiden Wachstumsform läßt sich demnach das Volumen des Tumors wie folgt bestimmen (DETHLEFSEN, PREWITT und MENDELSON, 1968):

$$V = \frac{(4/3) \times (1/2) \times (b/2) \times h}{2} = 0{,}5236 \times 1 \times b \times h$$

mit Länge 1 = längste Strecke des Tumors, gemessen parallel zur Oberfläche der Maus

Breite b = breiteste Strecke des Tumors, rechtwinklig zur Länge 1, gemessen parallel zur Oberfläche der Maus

Höhe h = höchste Strecke des Tumors, rechtwinklig zur Mausoberfläche

Einige Autoren beschränken sich bei der Bestimmung einer relativen Größenzunahme des Tumors auf zwei Meßgrößen, da insbesondere die Höhenmessung die schwierigste und somit am häufigsten von Fehlern belastet ist. Es zeigt sich jedoch, daß sich nur unter Zugrundelegung des Volumens eines Halbellipsoides eine annähernd gute Korrelation zum Tumorgewicht aufstellen läßt (DETLEFSEN et al., 1968;

LOONEY et al., 1973, 1975).

In meßtechnischer Hinsicht ergaben sich zwei große Probleme: zum einen vergrößerten sich die Meßgrößen durch den Betrag der Hautdicke der Maus, zum anderen kam es durch Bewegungen der Tiere während des Meßvorganges zu Formveränderungen des Tumors, welche bei Elastizität des Gewebes eine Änderung aller drei Meßdaten bedingte. Bei der Erstellung der Meßtabelle wurde deshalb jeder Wert unter Berücksichtigung der Hautdicke korrigiert; zur Kontrolle der Meßwerte wurde grundsätzlich zweifach gemessen, so daß im Falle einer Abweichung der Mittelwert errechnet werden konnte.

2.5 Bestrahlung der Tumore

Zur lokalen Bestrahlung der Tumore wurden die Versuchsmäuse mit 4 Klammern auf einem beweglichen Kleintierseziertisch fixiert.

Die Röntgenbestrahlung erfolgt mit dem Röntgengerät "Stabilipan" der Firma Siemens bei einer Röhrenspannung von 200 kV, einem Röhrenstrom von 20 mA unter Verwendung eines 0,5 mm dicken Cu - Platten - Filters. Der Fokus - Haut - Abstand betrug 25 cm, das Bestrahlungsfeld war durch einen Tubus mit 2 cm Durchmesser vorgegeben.

Die Tumore wachsen in aller Regel in Form eines Halbellipsoides, so daß der Strahlengang senkrecht zur Grundfläche des Tumors und damit senkrecht auf eine Tangente zur Thoraxwand eingestellt werden konnte.

Regelmäßig in der Strahlenklinik der Universität Düsseldorf durchgeführte Kontrollmessungen ergaben bei obiger Versuchsanordnung Abweichungen in der Strahlenintensität von weniger als 5% im Zentrum des Tumors.

Für die Versuchsreihe unter anoxischen Bedingungen wurde der Tumor vor der Bestrahlung mit Hilfe einer Kunststoffklammer abgeklemmt. Der Nachweis, daß das einfache Abklemmen eine tatsächliche Anoxizität des Tumorgewebes gewährleistet, konnte durch Versuchsreihen bestätigt werden, in deren Verlauf den Tieren nach Anbringen der Klammer Radioisotope injiziert wurden, die in weniger als 1% der Fälle auf die Anwesenheit von Sauerstoff schließen ließen (DENEKAMP und HARRIS, 1975). Obwohl bereits ein fünfminütiges Abklemmen den erwünschten Effekt herbei-

führt, wurde bei den vorgenommenen Versuchen ein 20-Minuten - Intervall gewählt.

Das von der Firma Roche Products Ltd. zur Verfügung gestellte Präparat wurde den tumortragenden Mäusen 30 Minuten vor der Bestrahlung intraperitoneal (1 mg Misonidazol / g Mausgewicht) injiziert.

2.6 Auswertung und Normierung der Wachstumskurven

Das Wachstumsverhalten eines jeden Tumors wurde semilogarithmisch (Abszisse: Zeit, Ordniate: Volumen) dargestellt, so daß sich bei unterschiedlichem Versuchsbeginn - die Tumorgröße variierte in der Größenordnung zwischen 0,1 ccm und 0,5 ccm - die Frage nach einer Normierung der Kurven auf eine einheitliche Ausgangsgröße stellte. Um eine Aussage über die dosisabhängige Strahlenwirkung auf das Tumorwachstum zu erhalten, wurde als Ausgangspunkt der Tag der Bestrahlung, bei unterschiedlicher Tumorgröße, gewählt. Als Kurvennormierungspunkt bzw. als "wahre Ausgangsgröße" wurde bei Messung bis zum fünffachen des Ausgangsvolumens definitionsgemäß der Wert 0,1 ccm festgelegt, wodurch bei Verwendung von semilogarithmischem Papier die Normierung durch parallele Vertikalverschiebung der Kurven herbeigeführt wurde, da diesem graphischen Vorgehen die arithmetische Mittelung des Wertes durch den Quotient aus dem Produkt von Volumenmeßpunkt mit der Zahl 100 und dem "wahren Ausgangswert" entspricht.

Die resultierenden normierten Einzelkurven lassen sich nun zu einer geometrischen Mittelwertskurve zusammenfassen, wobei das geometrische Mittel der Tumorgröße an beliebigen Meßtagen ermittelt wird und die dazugehörigen Standardabweichungen der Mittelwerte graphisch als senkrecht verlaufende Strecken den Summenkurven hinzugefügt werden. Um eine Aussage über die Tumorvolumenverdopplungszeiten zu machen, benötigt man eine Mittelwertskurve über die von den Tumoren benötigten Zeitintervalle zur Verviel-

fachung ihrer Ausgangsvolumina. Dies wird durch Aufaddierung der Zeitwerte bei konstantem Volumenwert und Errechnung des geometrischen Mittelwertes, bei gleichzeitiger Bestimmung der Standardabweichung erreicht.

2.7 Versuchsaufbau

Der Aufgabenstellung entsprechend, das Verhalten eines menschlichen Plattenepithelkarzinomes unter euoxischen und anoxischen Bedingungen nach Einzeitbestrahlung zu untersuchen, wurden Versuchsgruppen gebildet, die es erlauben, statistisch gesicherte, quantitative Aussagen über die Strahlenwirkung zu gewinnen. Zunächst wurden Kontrollgruppen gebildet, um die Auswirkungen der einzelnen Behandlungsmodalitäten ohne Bestrahlung in Erfahrung zu bringen. Als Vergleichsgröße dient das Wachstumsverhalten des transplantierten Tumors unter Messung der Tumorvolumenverdoppelungszeit.

Kontrollgruppen	Anzahl der Tiere
unbehandelter Tumor	12
Tumor nach 30 - minütigem Abklemmen	11
mit Misonidazol behandelte Tiere	9

Tab. 1

Die Bestrahlung der Versuchstiere erfolgte stets einzeitig und wurde je nach Behandlungsart mit unterschiedlicher Strahlendosis ausgeführt, um dem sich ändernden Sensibilitätsverhalten der Tumorzelle Rechnung zu tragen: Während im Versuch mit abgeklemmtem Tumor die Anoxizität der Zelle eine große Strahlenresistenz erwarten ließ - die Strahlensosis konnte dementsprechend höher gewählt werden -, mußte wegen der hohen Strahlenempfindlichkeit der euoxischen Zellen - insbesondere der mit Misonidazol vorbehandelten - eine Beschränkung der Strahlendosis erfolgen. Die

unterschiedliche Strahlenempfindlichkeit der Tumorzellen ließ demzufolge im sensibilisierten Tumor schon eine Gewebereaktion nach geringer Erhöhung der Strahlengrunddosis vermuten, so daß für die einzelnen Versuchsreihen unterschiedliche Dosisintervalle gewählt wurden.

Folgende Tabelle gibt eine Übersicht über das experimentelle Vorgehen:

Einzeitbestrahlung	Anzahl der Tiere
euoxisch	
5,5 Gy	11
7,2 Gy	12
10,0 Gy	11
14,4 Gy	13
18,0 Gy	12
anoxisch	
6,0 Gy	11
10,0 Gy	13
14,4 Gy	14
20,7 Gy	14
28,8 Gy	10
35,0 Gy	8
Misonidazol	
6,0 Gy	11
9,0 Gy	11
12,0 Gy	11
15,0 Gy	11

Tab. 2

3. Ergebnisse

3.1 Wachstumskurven

Zur graphischen Darstellung eines Behandlungs-, bzw. Bestrahlungseffektes dienen die sogenannten Wachstumskurven: Das normale, unbeeinflußte Tumorwachstum dient dabei als grundlegende Bewertungsgröße und erlaubt vergleichende Aussagen nach therapeutischer Beeinflussung des Tumorwachstumsverhaltens.

Als Kontrollgruppen dienten die reinen Wachstumskurven der unbestrahlten Tumore, sowie die Tumore nach 20 - minütigem Abklemmen und nach Gabe von 1 mg Misonidazol pro g Mausgewicht.

Es zeigte sich nach Abklemmen eine leichte Wachstumsverzögerung von ca. 3 Tagen, die jedoch für die weitere Berechnung der Strahlenversuche nicht berücksichtigt werden mußte (Abb. 2). Die einmalige Gabe von Misonidazol hatte keinen signifikanten Einfluß auf das Wachstumsverhalten des Tumors (Abb. 3).

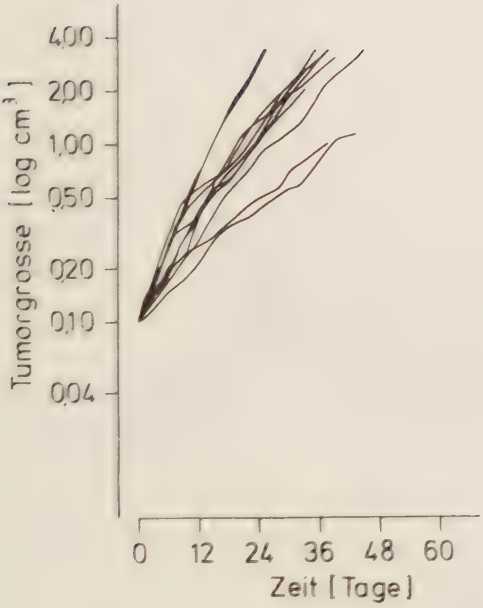


Abb. 1 (normierte Wachstumskurven der unbehandelten Kontrollgruppen, n = 12)

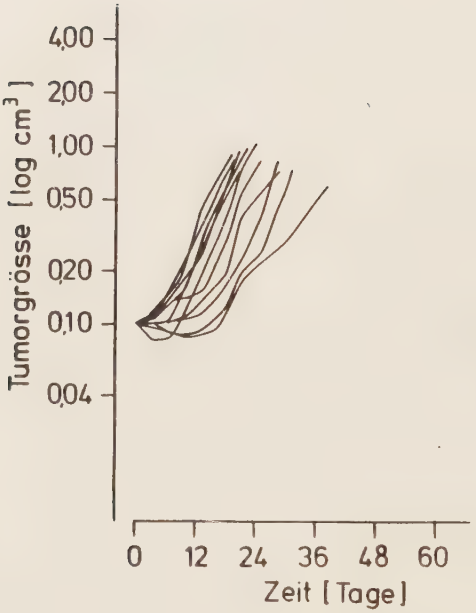


Abb. 2 (normierte Wachstumskurven der Kontrollgruppe mit 30 Minuten abgeklemmtem Tumor, n = 11)

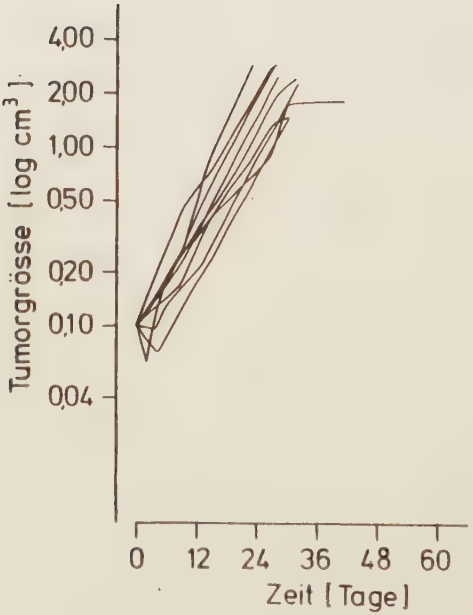


Abb. 3 (normierte Wachstumskurven der Kontrollgruppe mit Misonidazolbehandlung n = 9)

Die folgenden Abbildungen zeigen die auf 0,1 ccm^3 normierten Wachstumskurven der einzeitbestrahlten Versuchsgruppen, deren Einzelkurven anschließend durch arithmetische Mittelung in Summenkurven überführt wurden.

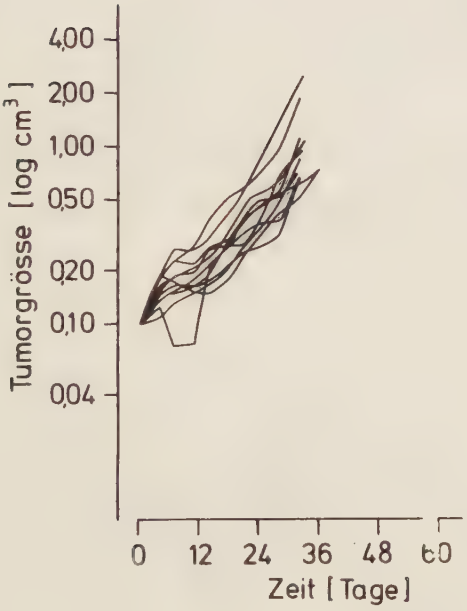


Abb. 4 (normierte Wachstumskurven, euoxische Einzeitbestrahlung mit 5,5 Gy, n = 11)

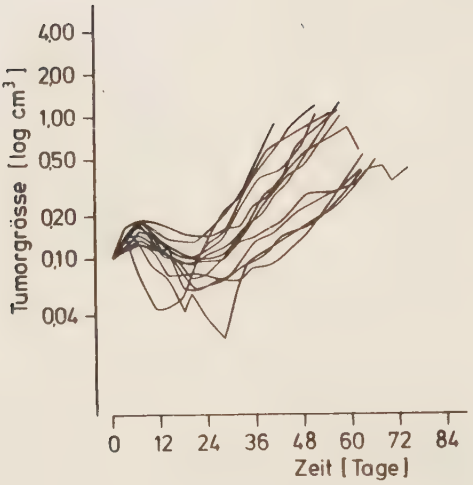


Abb. 5 (normierte Wachstumskurven, euoxische Einzeitbestrahlung 7,2 Gy, n = 12)

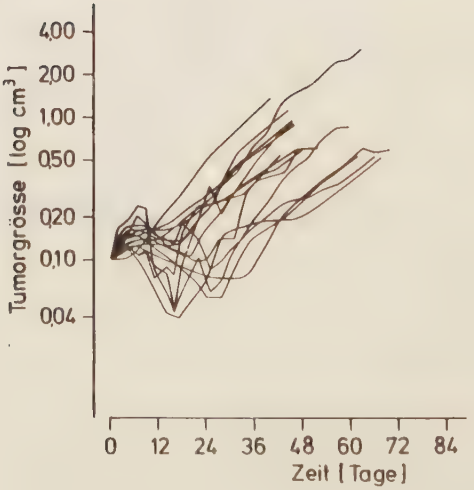


Abb. 6 (normierte Wachstumskurven, euoxische Einzeitbestrahlung 10,0 Gy, n = 11)

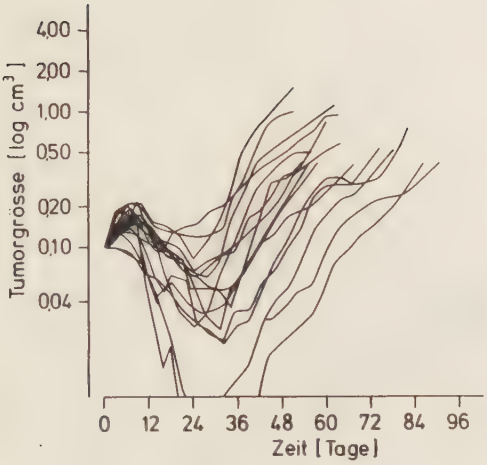


Abb. 7 (normierte Wachstumskurven, euoxische Einzeitbestrahlung 14,4 Gy, n = 13)

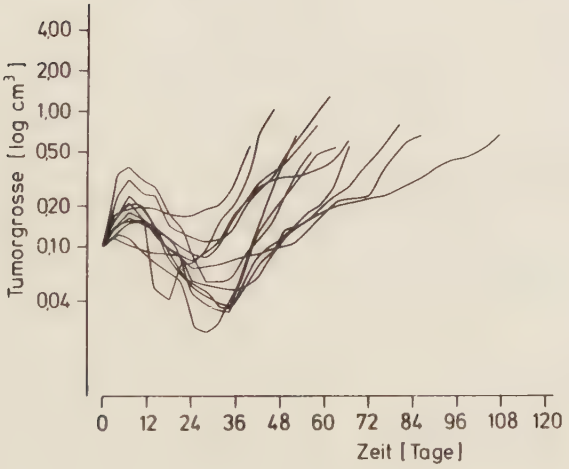


Abb. 8 (normierte Wachstumskurven, euoxische Einzeitbestrahlung 18,0 Gy, n = 12)

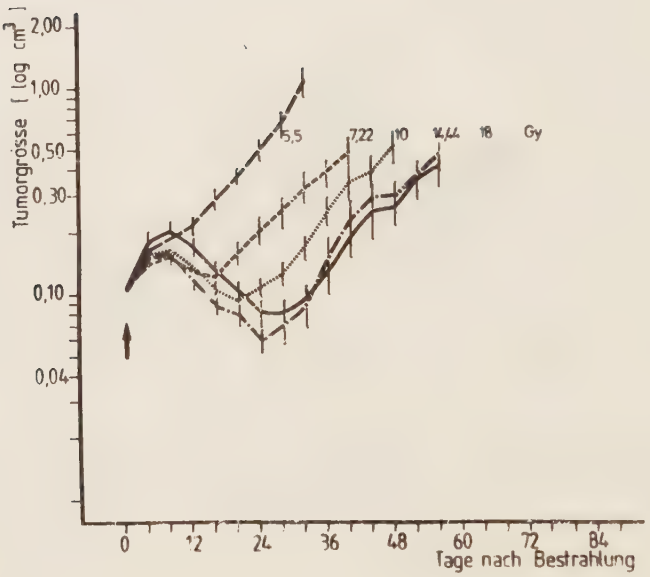


Abb. 9 Dosisabhängige Wachstumsverzögerung bei graphischer Darstellung der gemittelten Kurvenwerte nach euoxischer Einzeitbestrahlung
(5,5 Gy: 7,2 Gy: 10,0 Gy: 14,4 Gy: 18,0 Gy:
n = 11 - 13)

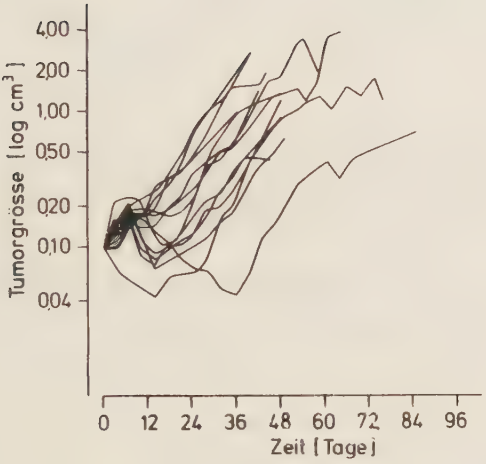


Abb. 10 (normierte Wachstumskurven, anoxische Einzeitbestrahlung 6,0 Gy, n = 11)

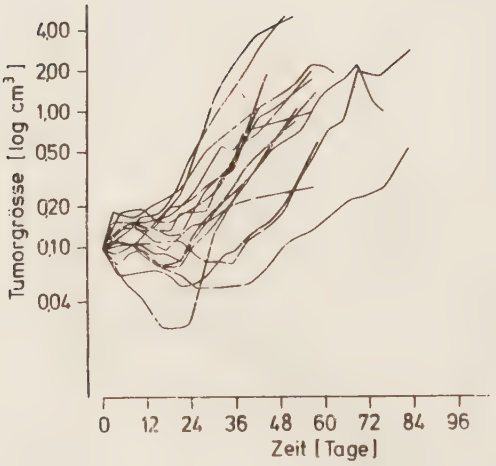


Abb. 11 (normierte Wachstumskurven, anoxische Einzeitbestrahlung 10,0 Gy, n = 13)

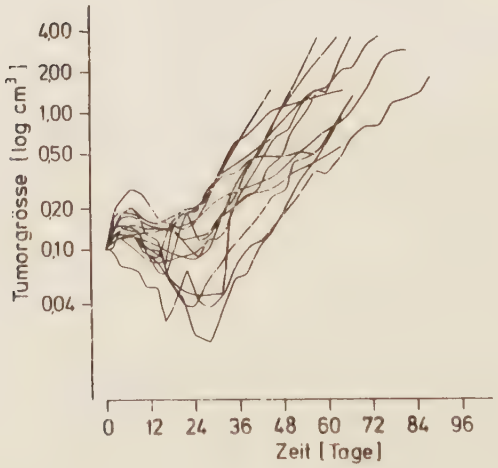


Abb. 12 (normierte Wachstumskurven, anoxische Einzeitbestrahlung 14,4 Gy, n = 14)

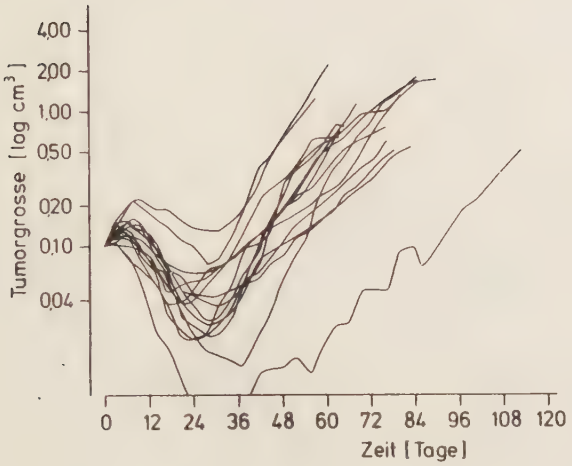


Abb. 13 (normierte Wachstumskurven, anoxische Einzeitbestrahlung 20,7 Gy, n = 14)

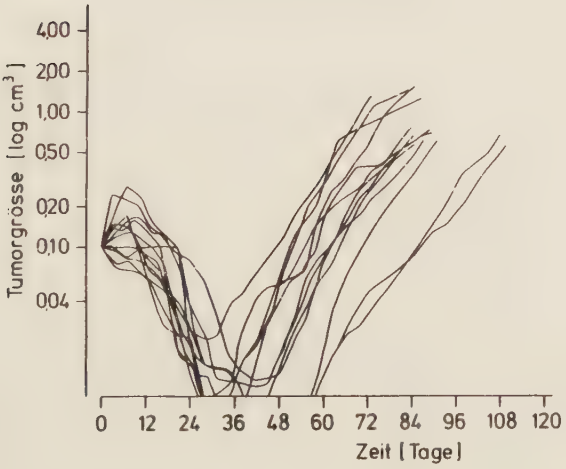


Abb. 14 (normierte Wachstumskurven, anoxische Einzeitbestrahlung 28,8 Gy, n = 10)

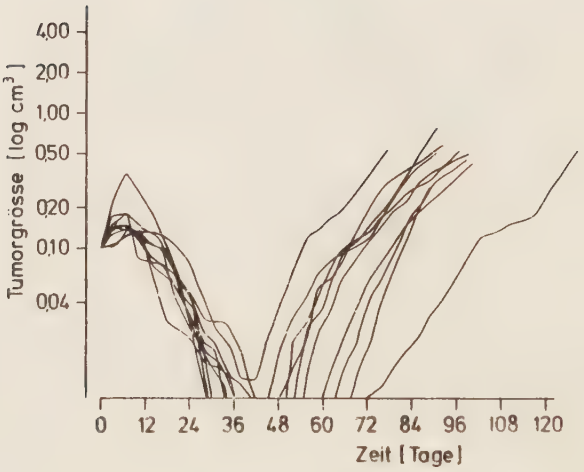


Abb. 15 (normierte Wachstumskurven, anoxische Einzeitbestrahlung 35,0 Gy, n = 8)

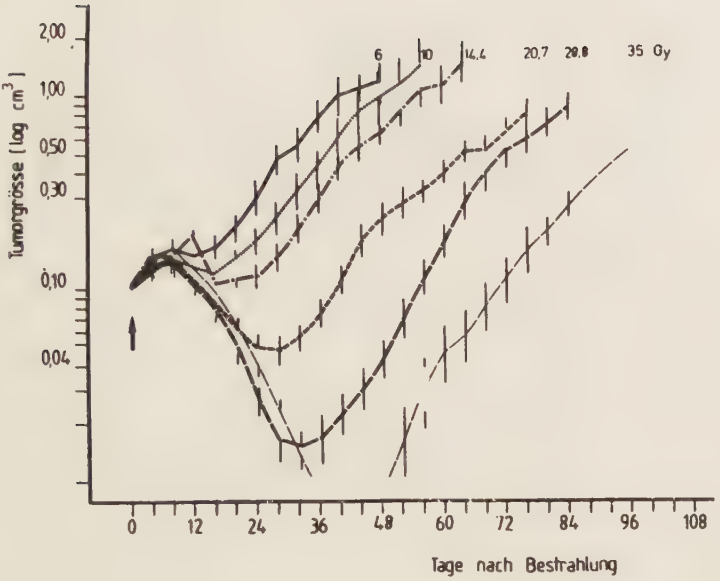


Abb. 16 Dosisabhängige Wachstumsverzögerung bei graphischer Darstellung der gemittelten Kurvenwerte nach anoxischer Einzeitbestrahlung. Die durch Hypoxie bedingte Zellresistenz erforderte höhere Bestrahlungsdosen.
(6 Gy; 10 Gy; 14,4 Gy; 20,7 Gy; 28,8 Gy; 35 Gy; n = 8 - 14)

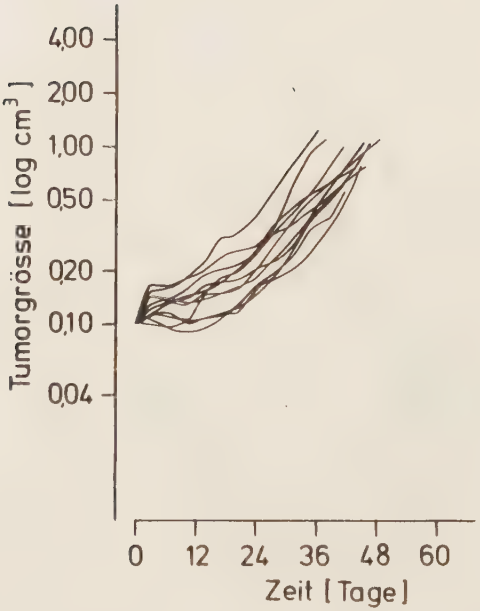


Abb. 17 (normierte Wachstumskurven, euoxische Einzeitbestrahlung mit Riso 6 Gy, n = 11)

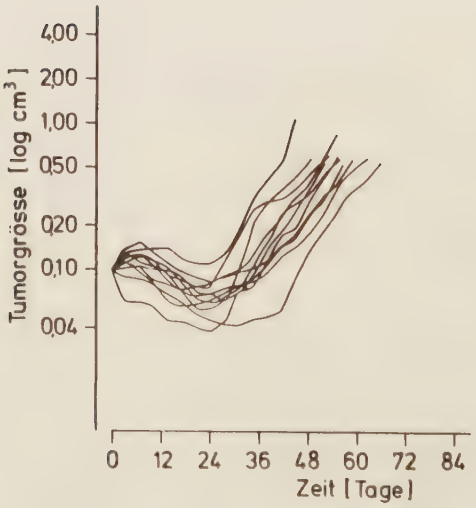


Abb. 18 (normierte Wachstumskurven, euoxische Einzeitbestrahlung mit Riso 9 Gy, n = 11)

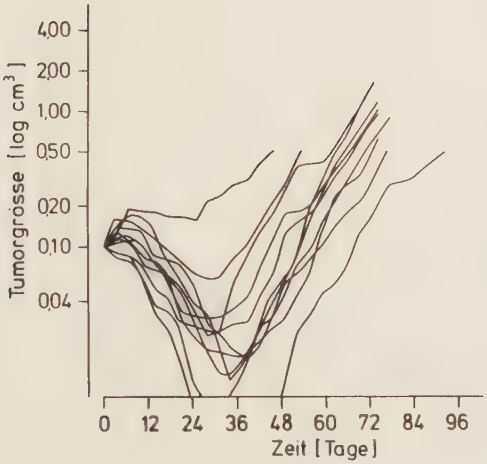


Abb. 19 (normierte Wachstumskurven, euoxische Einzeitbestrahlung mit Miso, 12 Gy, n = 11)

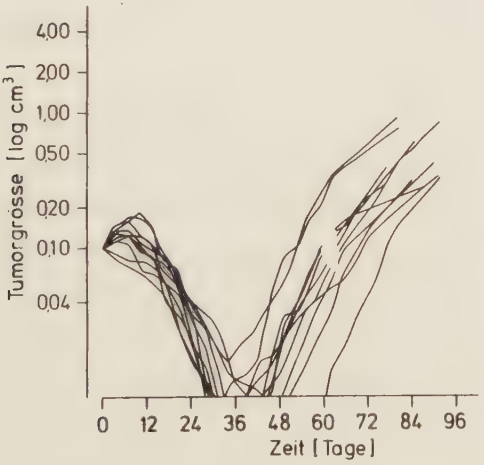


Abb. 20 (normierte Wachstumskurven, euoxische Einzeitbestrahlung mit Miso, 15 Gy, n = 11)

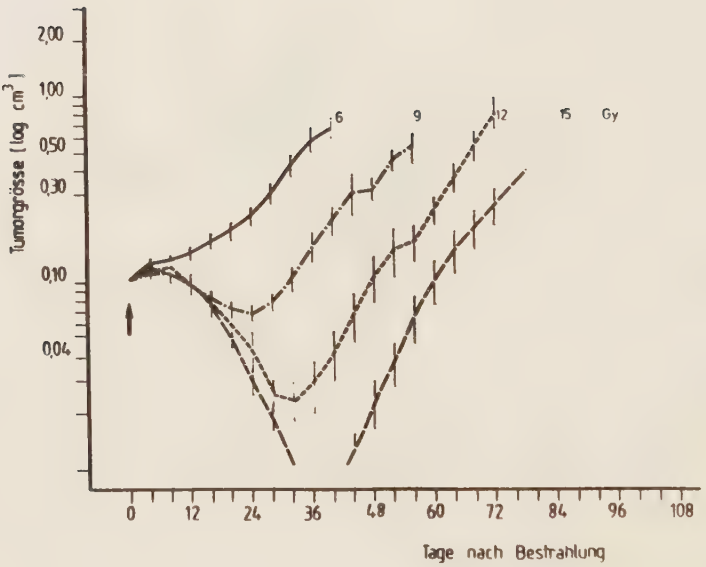


Abb. 21 Dosisabhängige Wachstumsverzögerung bei graphischer Darstellung der gemittelten Kurvenwerte nach euoxischer Einzeitbestrahlung unter Gabe von 1 mg Misonidazol pro g Mausgewicht. Verstärkte Wachstumsverzögerung durch Gabe des Radiosensitizers.
(6 Gy: 9 Gy: 12 Gy: 15 Gy: n = 11)

Die gemittelten Summenkurven gestatten die Bestimmung der Wachstumsverzögerung (regrowth delay assay), die als quantitativ faßbare Größe Auskunft über die Strahlenschädigung des Tumorgewebes gibt.

Von Bedeutung war in diesem Zusammenhang die Frage, welche weitere wachstumsbestimmende Faktoren neben der rein strahleninduzierten Schädigung des Tumors zu berücksichtigen sind, und ab welcher Tumorgröße nach Bestrahlung wieder von einer rein proliferativen Vermehrung der Tumormasse gesprochen werden kann.

Zur Klärung dieser Frage wurde bei der Auswertung der Wachstumsverzögerung sowohl der dreifache wie auch der fünffache Volumenausgangswert bestimmt.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefaßt:

Art der Versuchsreihe	Zahl der Versuchstiere	geometrischer Mittelwert der Wachstumsverzögerung in Tagen mit Standardabweichung des Mittelwertes für den	
		3fachen Ausgangswert	5fachen Ausgangswert
unbestrahlte Kontrollgruppe	12	9,6±0,92	15,02±1,36
Einzeitdosen euoxisch in rad			
550	11	18,94±1,2	25,44±1,36
722	12	34,56±2,62	41,46±2,88
1000	11	39,82±3,60	45,31±2,60
1444	13	49,15±3,30	57,26±4,00
1800	12	53,33±4,31	57,00±3,87

Art der Versuchsreihe	Zahl der Versuchstiere	geometrischer Mittelwert der Wachstumsverzögerung in Tagen mit Standardabweichung des Mittelwertes für den	
		3fachen Ausgangswert	5fachen Ausgangswert
unbestrahlte Kontrollgruppe 30 Min. abgeklemmt	11	18,22±1,88	20,04±1,55
Einzeitdosen anoxisch in rad			
600	13	26,87±2,40	32,46±2,35
1000	14	33,40±2,69	38,86±2,76
1444	14	40,08±2,18	47,70±2,65
2070	14	56,21±2,59	62,67±2,85
2888	10	56,21±2,59	75,27±2,66
3500	8	84,02±2,68	------

Art der Versuchsreihe	Zahl der Versuchstiere	geometrischer Mittelwert der Wachstumsverzögerung in Tagen mit Standardabweichung des Mittelwertes für den	
		3fachen Ausgangswert	5fachen Ausgangswert
unbestrahlte Kontrollgruppe mit Misonidazol behandelt	9	11,80±1,00	16,00±1,00
Einzeitdosen Misonidazol in rad			
600	11	28,94±1,66	35,91±1,41
900	11	46,53±2,12	53,10±1,96
1200	11	62,47±2,62	66,44±2,07
1500	11	71,92±2,58	-----

Tab. 3

Es kann gezeigt werden, daß bei allen Versuchsanordnungen eine Abhängigkeit zwischen der Strahlendosis und der Wachstumsverzögerung besteht. Obgleich sich generell die Wachstumsverzögerung mit der Erhöhung der Strahlendosis verstärkt, so bestehen durch den unterschiedlichen Sensibilitätszustand der Zelle in gewissen Dosisbereichen Unterschiede: so bedeutet für die mit Misonidazol behandelten Tumore jede Dosissteigerung eine etwa gleiche Zunahme der Wachstumsverzögerung, während dies für die unter euoxischen Bedingungen bestrahlten Tiere in den hohen, und für die anoxischen Tumore in den niedrigen Dosisbereichen, nicht zuzutreffen scheint.

Für das Wachstumsverhalten der Rezidive gilt, daß die Wachstumsgeschwindigkeit der Tumore nach Wiedererreichen der Volumengröße zum Zeitpunkt der Bestrahlung keine Dosisabhängigkeit erkennen läßt und mit dem Wachstumsverhalten der unbehandelten Tumore übereinstimmt.

3.2 Dosiseffektkurven

Welcher strahlentherapeutischer Effekt, gemessen an der Wachstumsverzögerung, bei unterschiedlichem Sensibilitätsgrad der Tumorzellen erreicht werden kann, läßt sich aus den Dosiseffektkurven (Abb. 22 und Abb. 23), die unter Zugrundelegung sowohl des dreifachen wie auch des fünffachen Volumenausgangswertes erstellt wurden.

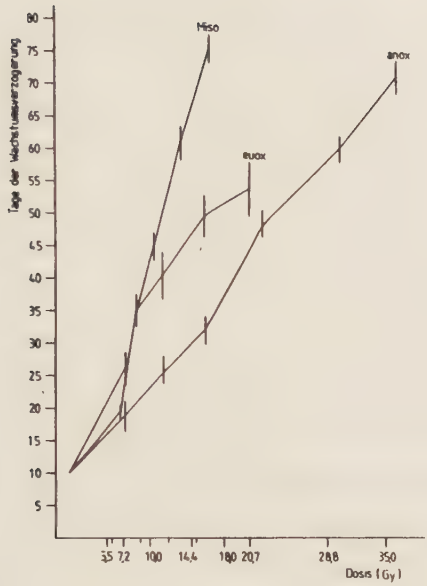


Abb. 22 (Dosiseffektkurve aus den Medianwerten der Wachstumsverzögerung für den 3-fachen Volumenausgangswert)

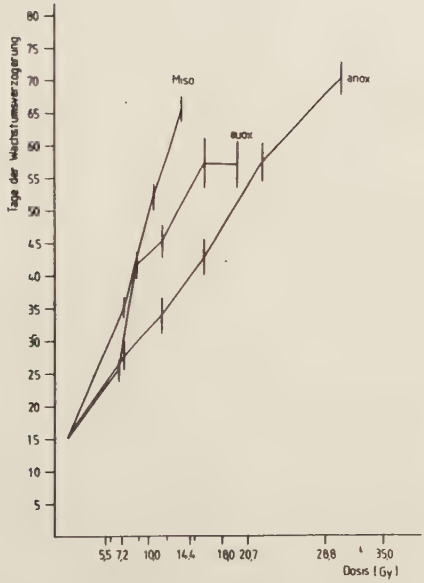


Abb. 23 (Dosiseffektkurve aus den Medianwerten der Wachstumsverzögerung für den 5-fachen Volumenausgangswert)

Der Verlauf der Kurven beider Abbildungen verdeutlicht, daß im Vergleich zur normalen euoxischen Zelle die Anoxizität der Tumorzelle eine Erhöhung der Strahlendosis erforderlich macht, während bei der Anwendung des Sensibilisators Misonidazol geringere Dosen genügen, um den gleichen strahlentherapeutischen Effekt zu erzielen. Die Wirkungssteigerung durch das Pharmakon wird allerdings erst ab einer Strahlendosis von ca. 10 Gy deutlich, erhöht sich aber dann stetig mit jeder Dosiserhöhung. Unter der Annahme, daß die durch nach Behandlung mit Misonidazol gewonnene Dosiseffektkurve einer nahezu ideal verlaufenden Kurve für volle Oxygenierung darstellt, läßt sich die Beziehung des Verstärkungsfaktors für Sauerstoff bzw. Misonidazol in Abhängigkeit von der Strahlendosis näher bestimmen:

Verstärkungsfaktor für Sauerstoff:

Dosis in Gy	für den 3fachen Volumenwert	5fachen Volumenwert
6 Gy	1,6	1,7
10 Gy	1,78	1,8
14,4 Gy	1,99	2,1
20,7 Gy	2,02	2,13
28,8 Gy	2,2	2,3

Verstärkungsfaktor für Misonidazol:

7,2 Gy	1,02	1,0
10,0 Gy	1,31	1,2
13,6 Gy	1,49	1,38
14,4 Gy	1,53	1,45
18,0 Gy	1,65	1,59
20,5 Gy	1,7	1,67

Tab. 4

Die graphische Darstellung der Beziehung zwischen Strahlendosis und Verstärkungfaktor ergibt Schulterkurven (Abb. 22 und Abb. 23), die darüber Auskunft geben, in welchen Dosisbereichen mit welcher Strahlenverstärkung durch eine sensibilisierende Substanz gerechnet werden kann. Bei vergleichsweise niedrigerem Verstärkungsfaktor zeigt das Misonidazol über einen großen Dosisbereich einen stetigen Anstieg seiner Wirksamkeit - eine volle Ausnutzung der Wirkung des Sensibilisators sind daher im Tierexperiment wegen der erforderlichen hohen Dosen Grenzen gesetzt -, während Sauerstoff die einmal erreichte Strahlenwirkung nur noch geringfügig zu steigern vermag.

4. Diskussion der Ergebnisse

Auf der Suche nach strahlensensibilisierenden Medikamenten stieß man 1973 (HALL) auf eine wohlbekannte Substanz gegen Trichomonaden. Es handelte sich um das Metronidazole, das im Handel als Flagyl bekannt war. Umfangreiche Untersuchungen an Zellkulturen erbrachten in Anwesenheit von Metronidazol einen Sauerstoffverstärkungsfaktor von 1,8 (HALL, 1975). Es zeigte sich jedoch, daß bei Applikation von größeren Dosen der sensibilisierende Effekt von Metronidazol abnahm. Im Folgenden bemühte man sich um die Einführung verschiedener Nitroimidazolderivate, wobei das Misonidazol (Ro-07-0582)sich als stärkstes sensibilisierendes Mittel herausstellte. Mit diesem Zellsensitizer erhielt man einen Verstärkungseffekt der ebenfalls über 1,8 bei Experimentaltumoren lag (SHELDON, P.W., FOSTER, J.L., FOWLER, J.F., 1974).
Es wurden bisher jedoch menschliche Tumoren auch in experimentellen Ansätzen mit Misonidazol nicht untersucht. Wir haben daher ein Plattenepithelcarcinom des Kopf - Hals - Bereiches (Tumor Ia), das wir in Serie auf thymusaplastischen Mäusen anzüchten konnten, mit Misonidazole ausgetestet.

Das uns von der Firma Hoffman La Roche zur Verfügung gestellte Präparat wurde in einer Dosierung von 1 mg / g Maus i.p. injiziert. Die einmalige Gabe von Misonidazol erbrachte keine wesentliche Änderung des Wachstumsverhaltens in den Kontrollgruppen (Abb. 3).
Lediglich in den Tumoren die durch Abklemmen hypoxisch

gemacht wurden, kam es zu einer kurzfristigen Wachstumsverzögerung die jedoch rechnerisch keinen Einfluß auf den weiteren Versuchsablauf hatte. Bei der relativ großen Streuung des normalen Tumorwachstums war die durch Hypoxie bedingte Wachstumsverzögerung von 3 Tagen nicht signifikant.

Der Versuchsaufbau wurde so gewählt, daß unter anoxischen Bedingungen (abgeklemmter Tumor) größere Strahlendosen appliziert wurden, als unter euoxischen Bedingungen mit und ohne Gabe von Misonidazol (siehe Versuchsaufbau Tab. 2).

Um eine statistisch signifikante Aussage zu erhalten, wurden im Durchschnitt 10 Tiere in einem Kollektiv bestrahlt. In allen drei Versuchsgruppen zeigte sich eine deutliche dosisabhängige Strahlenwirkung, die an der Wachstumsverzögerung ablesbar war. Mit steigender Einzeldosis nahm die Wachstumsverzögerung zu, wobei unter euoxischen Bedingungen 18 Gy als höchste Dosis nicht überschritten werden konnte. Im Vergleich zu Einzeitbestrahlungen bei Experimentaltumoren (Carcinoma NT, Fibrosarkom SSK 31, Rabdomyosarkom, H.P. Melanom, RIB 5 zitiert nach SCHLECHTWEG, 1978) zeigte sich eine relativ größere Strahlensensibilität unseres menschlichen Plattenepithelcarcinoms gegenüber allen tierexperimentellen Tumoren. Dieses gilt auch für das bisher strahlensensibilisierte Harding Passey Melanom (H.P.M.), daß eine fast zweifach größere Strahlenresistenz gegenüber unserem Tumor beweist.

Die erhöhte Strahlenresistenz hypoxischer Zellen ließ sich

auch am Modell des xenotransplant erten menschlichen Plattenepithelcarcinoms darstellen. Wie aus den gemittelten Wachstumskurven nach anoxischer Einzeitbestrahlung mit einer Dosis von 6 Gy bis 35 Gy hervorgeht, müssen unverhältnismäßig größere Dosen für vergleichbare Wachstumsverzögerungen eingebracht werden. Die Strahlenresistenz der Tumorzellen erlaubt daher auch die relativ hohe Applikation von 35 Gy (siehe Abb. 16). Wie bei den Einzeitbestrahlungen unter euoxischen Bedingungen zeigt sich eine strenge dosisabhängige Wirkung auf die gemittelten Wachstumskurven. Bemerkenswert ist bei der hypoxischen wie auch bei der euoxischen Bestrahlungsform, daß der Tumor nicht sofort nach der Bestrahlung an Volumen verliert, sondern in den ersten 6 - 8 Tagen stetig weiter wächst, um dann fast dosisabhängig eine Volumenabnahme vorweist; dabei ist die Volumenabnahme oder auch Regression nach anoxischer Einzeitbestrahlung deutlich stärker ausgeprägt, als nach Bestrahlung unter ambienten Bedingungen. Der Wachstumsverlauf nach Erreichen der Ausgangsgröße entspricht jedoch auch hier dem Wachstumsverlauf der unbestrahlten Kontrollgruppe.

Wie bei den vorherigen Versuchen zeigte sich auch nach Gabe von Misonidazol eine dosisabhängige Wachstumsverzögerung. Im Vergleich zu den reinen euoxischen und anoxischen Strahlenversuchen kam es jedoch frühzeitig zu einer Regression des Tumors und zu hohen Werten der Wachstumsverzögerung schon bei niedrigen Strahlendosen.

Die starke strahlensensibilisierende Wirkung zeigt sich im Vergleich der Dosiseffektkurven, z.B. nach Applikation von 1000 rad. Unter euoxischen Bedingungen ergibt sich eine Wachstumsverzögerung von ca. 40 Tagen, unter anoxischen Bedingungen von ca. 35 Tagen und nach Gabe von Misonidazol von 46 Tagen (jeweils berechnet für den dreifachen Wert). Die Dosiseffektkurven aus den Wachstumsverzögerungen für die euoxische Bestrahlung mit und ohne Misonidazol zeigt anfangs einen steilen Verlauf, wobei in den niedrigen Dosisbereichen 3,5 bis 7,2 Gy die Kurven fast kongruent verlaufen. Erst nach hohen Einzeldosen zeigt sich eine starke Abweichung der Dosiseffektkurven der euoxischen und Misonidazol - Bestrahlungsversuche. Es ergibt sich daher ein Verstärkungsfaktor für Misonidazol der ab 10 Gy zwischen 1.3 und 1,7 liegt (siehe Abb. 22).

Die schon in zahlreichen Tierversuchen dargestellte Effektivität des Strahlensensitizers vom Typ des Misonidazol ließ sich somit auch an diesem menschlichen Xenotransplantat darstellen. Es ist jedoch zu bemerken, daß es sich bei unseren Versuchen um Einzeitbestrahlungen handelt, wie sie in der klinisch - therapeutischen Strahlenbehandlung am Menschen nicht appliziert werden können. Da in den niedrigen Dosisbereichen sowohl der Sauerstoffverstärkungsfaktor wie auch der Misonidazolverstärkungsfaktor unter unseren Versuchsbedingungen nicht ausgeprägt sind, kann davon ausgegangen werden, daß in der heute üblichen klinischen Strahlentherapie mit fraktionierten Dosen von 1,5 - 3 Gy je Fraktion ein strahlensensibilisierender Effekt des

Misonidazol nicht zu erwarten ist. Von daher wird es auch verständlich, daß die bisher durchgeführten klinischen Studien an verschiedenen Tumoren des Menschen nach Gabe von Misonidazol zu keinen durchschlagenden klinischen Erfolgen geführt haben (DISCHE et al., 1976). Weiteren experimentellen Arbeiten wird es vorbehalten sein, eine mögliche klinische Anwendung von Misonidazol unter veränderten Fraktionierungsbedingungen zu überprüfen.

Die starke strahlensensibilisierende Wirkung von Misonidazol in hohen Strahlendosisbereichen beweist einmal mehr jedoch das Vorhandensein von hypoxischen Zellen, die letztendlich für die Strahlenresistenz eines Tumors verantwortlich sind. Der experimentelle Beweis für das Vorhandensein solcher hypoxischen Zellen in menschlichen Tumoren, ist bisher nur in wenigen Fällen gelungen. DENEKAMP berechnete die Größe der hypoxischen Zellfraktion in menschlichen Tumoren und fand Werte zwischen 4% und 50%, wobei die tatsächlichen Werte zwischen 10% und 20% anzusetzen sind. Unter vergleichbaren Bestrahlungsbedingungen konnten wir davon ausgehen, daß diese Werte auch für unser untersuchtes Plattenepithelkarzinom zutreffen. Die Effektivität einer Strahlentherapie ist letztlich abhängig von der Sensibilität dieser hypoxischen Zellfraktionen.

5. Zusammenfassung

Diese Arbeit beschäftigt sich mit der Auswirkung einer Einzeitbestrahlung unter anoxischen und euoxischen Bedingungen, sowie nach Gabe eines Zellsensitizers vom Typ des Misonidazol auf ein menschliches xenotransplantiertes Carcinom.

Die Xenotransplantation von menschlichen Tumoren erlaubt ein Anwachsen dieser Tumore auf sogenannten thymusaplastischen nu / nu - Mäusen, wobei unter definierten experimentellen Versuchsbedingungen die Strahlensensibilität eines menschlichen Plattenepithelcarcinoms untersucht werden kann. In diesem Falle wurde ein Mundbodencarcinom gewählt, wobei unter definierten und standardisierten Bedingungen verschiedene Einzeitdosen eingestrahlt wurden. Nach Transplantation des Tumors in die laterale Thoraxwand wurde der Tumor jeweils lokal bestrahlt.
Unter euoxischen Bedingungen zeigte sich eine biphasische Dosiseffektkurve, wobei eine angedeutete Schulter bei 10 Gy vorzufinden ist. Der Verlauf der Dosiseffektkurve bei größeren Strahlendosen entspricht dem Verlauf der Dosiseffektkurve unter anoxischen Bedingungen, bei denen die Zellen des Tumors besonders strahlenresistent sind. Es kann daher auch bei einem menschlichen Tumor davon ausgegangen werden, daß neben euoxischen Zellen auch hypoxische Zellen und vor allem diese, die Sensibilität des Tumors auf eine Strahlentherapie beeinflussen. Aus den durchgeführten Untersuchungen ergibt sich daher auch ein Sauerstoffverstärkungsfaktor von 1,6 bis 2,2.

Strahlensensibilisatoren vom Typ des Misonidazol führen bei Experimentaltumoren zu einem Verstärkungseffekt der Bestrahlung. Nach Gabe von 1 mg / g Mausgewicht dieses Medikamentes zeigte sich auch bei unserem xenotransplantierten menschlichen Carcinom ein deutlicher sensibilisierender Effekt, vor allem ab 10 Gy mit einem Misonidazolverstärkungsfaktor von 1,3 bis 1,7. Damit ist auch ein weiterer Beweis für das Vorhandensein einer hypoxischen Zellfraktion in menschlichen Tumoren erbracht. Der steile Kurvenverlauf der Dosiseffektkurve enspricht (voll oxigeniertem) Tumor. Dieser Verstärkungsfaktor läßt die Größe der hyoxischen Zellfraktion in diesem menschlichen Xenotransplantat zwischen 12% und 20% als Schätzwert zu. Die Größe der Wachstumsverzögerung in diesem in - situ Modell ist abhängig von dieser hypoxischen Zellfraktion. Der Nachweis dieser resistenten Zellfraktion im Verlauf der Dosiseffektkurve der euoxischen Bestrahlung, der anoxischen Bestrahlung, wie vor allem in der Effektsteigerung nach Gabe von Misonidazol, konnte in diesen Versuchen anhand des sogenannten regrowth - delay - assay erbracht werden.

6. Literaturverzeichnis

1. ADAMS, G.E.
   Pulse radiolysis in radiobiology: Some recent studies on model systems, In: STEIN, G. (Hsg.): Radiation Chemistry of Aqueous systems, 289 - 308;
   Weizman New Science Press with Interscience (1968)

2. ADAMS, G.E.
   Hypoxic cell sensitizers for radiotherapy in: Cancer 6, Radiotherapy, Surgery and Immunotherapy
   BECKER, F.F. (Hsg.)
   Plenum Press, New York, London, (1977)

3. ADAMS, G.E.
   Hypoxic Cell Sensitizers for Radiotherapy. In: BECKER, F.F. (Hsg.): Cancer 6, 181 - 223,
   Plenum Press, New York, London, (1977)

4. ADAMS, G.E., FLOCKHART, I.R., SMITHEN, C.E., STRATFORD, I.J., WARDMAN, P., WATTS, M.E.
   Electron - affinic sensitization. VII. A correlation between structures, one - electron reduction potentials and efficiences of some nitroimidazoles as hypoxic cell radiosensitizers.
   Radiat. Res. 67, 9, (1976)

5. AFFELDT, G., KURTH, G.A.
   Fraktionierte Bestrahlung xenotransplantierter menschlicher Plattenepithelcarcinome aus dem HNO - Bereich, ein in - situ - Modell auf thymusaplastischen nu / nu - Mäusen.
   Dissertation, Universität Düsseldorf (1982)

6. ALPER, T., MOORE, J.L.
   The independence of oxygen enhancement ratios for 250 kVp X - rays fast neutrons.
   Brit. J. Radiol. 40, 843 - 848, (1967)

7. BADER, A., FORTMEYER, H.P., LAPP, C., BASTERT, G.
Zum Wachstumsverhalten menschlicher Malignome nach Transplantation auf nu / nu - Mäuse. I. Abhängigkeiten vom Alter der Empfängertiere.
Zschr. Versuchstierk. 23, (1981)

8. BALDWIN, R.W., PIMM, M.V.
Human tumor xenografts in athymic nude mice: non - specific host rejection responses. In: SPARROW, S., (Hsg.): Immunodificient Animals in Cancer Research.
Macmillan Press, London, (1980)

9. BARENDSEN, G.W.
Cellular responses determining the effectiveness of fast neutrons relative to X - rays for effects on experimental tumors.
Europ. J. Cancer 7, 181 - 190, (1971)

10. BARENDSEN, G.W., KOOT, C.J., VAN KERSEN, G.R., BEWLEY, D.K., FIELD, S.B., PARNELL, C.J.,
The effect of oxygen on impairment of the proliferative capacity of human cells in culture by ionizing radiations of different LET.
Int. J. Rad. Biol. 10, 317 - 327 (1966)

11. BARTHOLD, S., OSBALDISTON, G., JONAS, A.
Dietary, bacterial and host genetic interactions in the pathogenesis of transmissible murine colonic hyperplasia.
Lab. Anim. Sc., 27, 938, (1977)

12. BASTERT, G.
Heterotransplantation menschlicher Tumoren, vorzugsweise Mammakarzinome, auf thymusaplastische nu / nu - Mäuse. Ein wissenschaftliches und klinisches Testmodell.
Habil. Schrift, Frankfurt / M, (1977b)

13. BASTERT, G., FORTMEYER, H.P., SCHMIDT-MATTHIESEN, H. (Hsg.)
Thymus aplastic Nude Mice and Rats in Clinical Oncology.
G. Fischer Ver., Stuttgart, New York (1981)

14. BELLI, J.A., ROACH, A.
"Anoxic" radiation response in cultured mammalian cells.
Brit. J. Radiol. 41, 390 - 391, (1968)

15. BERRY, R.J.
Survival of murine leukaemia cells in vivo after irradiation in vitro under aerobic and hypoxic conditions with monienergetic accelerated charged particles.
Radiat. Res. 44, 237 - 247, (1970)

16. BERRY, R.J., BEWLEY, D.K., PARNELL,C.J.
Reproductive capacity of mammalian tumor cells irradiated in vivo with cyclotronproduced fast neutrons.
Brit. J. Radio. 38, 613 - 617, (1965)

17. BERRY, R.J., HALL, E.J., CAVANAGH, J.
Radiosensivity and the oxygen effect for mammalian cells cultured in vitro in stationary phase.
Brit. J. Radiol. 43, 81 - 90, (1970)

18. BIENIEK, H., TOBER-MEYER, B.
Zur Ätiologie der Colitis und des Prolapsus recti bei der Maus.
Zschr. Versuchstierkunde, 18, 337, (1976)

19. BLOEMMEN, J., EYSSEN, H.
Immunglobulin levels of sera genetically thymusless (nude) mice.
Eur. J. Immunol. 3, 117 (1973)

20. BURTON, R.C., HOLMES, M.C., WARNER, N.L.M., WOODRUFF, M.F.A.
Mechanisms of resistance to syngeneic tumors in athymic (nude) mice. In: NOMURA, T. et al (Hsg.): Proc. Sec. Inter. Workshop Nude Mice. G. Fischer Ver., Stuttgart, New York, (1977)

21. CARREL, S., SORDAT, B., MERENDA, C.
Establishment of a cell line (Co 115) from a human colon carcinoma transplanted into nude mice. Cancer Res. 36, 3978 - 3984, (1976)

22. CHAPMAN, J.D., GREENSTOCK, C.L., REUVERS, A.P., MCDONALD, E., DUNLOP, I.
Radiation chemical studies with nitrofurazone as related to its mechanism of radiosensitization. Radiat. Res. 53, 190, (1973a)

23. CHAPMAN, J.D., REUVERS, A.P., BORSA, J., HENDERSON, J.S., MIGLIORE, R.D.
Nitroheterocyclic drugs as selective radiosensitizers of hypoxic mammalian cells. Cancer Chemother. Rep. Part I, 58(4), 559, (1974)

24. CHURCHILL-DAVIDSON, I., SANGER, C., THOMLINSON, C.H.
High pressure oxygen and radiotherapy. Lancet 1091, (1955)

25. CORDIER, A.C.
Ciliogenesis and ciliary anomalies in the thymic cysts of "nude" mice. Cell Tiss. Res., 148, 397, (1974)

26. DENEKAMP, J., FOWLER, J.F.
Cell Proliferation Kinetics and Radiation Therapy.
In: BECKER, F.F. (Hsg.): Cancer 6, Radiotherapy, Surgery and Immunotherapy.
Plenum Press, New York, London, (1977)

27. DENEKAMP, J., FOWLER, J.F., DISCHE, S.
The proportion of hypoxic cells in a human tumor
Int. J. Radiation Oncology Bio. Phys., 2, 1227 - 1228, (1977)

28. DENEKAMP, J., HARRIS, S.R.
Tests of two electron affinic radiosensitizers in vivo using growth of an experimental carcinoma.
Radiat. Res. 61, 191 - 203, (1975)

29. DENEKAMP, J., HARRS, S.R.
The response of a transplantable tumor to fractionated irradiation. 1. X - rays and the hypoxic cell radiosensitizer Ro-07-0582.
Radiat. Res. 66, 66 - 75, (1976)

30. DE SOUSA, M.A.B., PRTCHARD, H., PARRT, D.M.V.
The lymphoid tissues in mice with congenital aplasia of the thymus.
Clin. Exp. Immunol., 4, 637, (1969)

31. DE SOUSA, M.A.B., PRTCHARD, H., PARROT, D.M.V.
An analysis of some morphological features of the lymphoid system in nude mice. In: RYGAARD, J., POVLSEN, C.O., (Hsg.): Proc. First Intern. Workshop Nude Mice.
G. Fischer Verlag, Stuttgart, (1974)

32. DETHLEFSEN, L.A., PREWITT, J.M.S., MENDELSOHN, M.L.
Analysis of Tumor Growth Curves
J. Nat. Cancer Inst. 40, 389 - 405, (1968)

33. DISCHE, S., GRAY, A.J., ZANEL'I, G.D.
Clinical testing of the radiosensitizer Ro-07-0582
II Radiosensitization of normal and hypoxic skin
Clin. Radiol. 27, 159 - 166, (1976)

34. DU SAULT, L.A.
The effect of oxygen on the response of spontaneous tumors in mice to radiotherapy.
Brit. J. Radiol. 36, 749, (1963)

35. EATON, G.J.
Hair growth waves and cycles in nude mice. In: NOMURA, T. et al. (Hsg.): Proc. Sec. Intern. Workshop Nude Mice
G. Fischer Ver. Stuttgart, New York, (1977)

36. ELKLIND, M.M., SWAIN, R.M., ALESCIO, T., SUTTON, H., MOSES, W.H.
Oxygen, nitrogen, recovery and radiation therapy.
Cellular Radiation Biology, Baltimore Williams & Wilkins (1965b)

37. FEAOLA, J.M., LAWRENCE, J.H., WELCH, G.P.
Oxygen enhancement ratio and RBE of Helium ions on mouse lymphoma cells.
Radiat. Res. 40, 400 - 413, (1969)

38. FLANAGAN, S.P.
"Nude", a new hairless gene with pleiotropic effects in the mouse.
Genetic Res. 8, 295 - 309, (1966)

39. FOGH, J., GIOVANELLI, B.C. (Hsg.)
The Nude Mouse in Experimental and Clinical Research.
Academic Press, New York, San Francisco, London (1978)

40. FOGH, J., ORFEO, T., TISO, T., FOGH, J.M., SHARKEY, F.F.
Analysis of human tumor growth in nude mice.
In: REED, N.D. (Hsg.): Proc. Third Inter. Workshop Nude Mice.
G. Fischer Verlag, New York, Stuttgart (1981)

41. FORTMEYER, H.P.
Thymusaplastische Maus (nu / nu)
Thymusaplastische Ratte (rnu / rnu)
Haltung, Zucht, Versuchsmodelle
Verlag Paul Parey, Berlin, Hamburg, (1981)

42. FUKUDA, T., KISTLER, G.S., GROSCURTH, P.
The early postnatal development of the thymus in the nude mouse. 2. Electron microscopic observations. In: RYGAARD, J., POVLSEN, C.O., (Hsg.): Proc. First Intern. Workshop Nude Mice.
G. Fischer Verl., Stuttgart, (1974)

43. GIOVANELLA, B.C., FOGH, J.
Present and Future trends in investigations with the nude mouse as a recipient of human tumor transplants. In: FOGH, J., GIOVANELLA, B.C. (Hsg.): The Nude Mouse in Experimental and Clinical Research.
Academic Press, New York, San Francisco, London, (1978)

44. GIOVANELLA, B.C., YIM, S.O., STEHLIN, J.S., WILLIAMS, L.J. jr.
Development of invasive tumors in the nude mouse after injection of cultured human melanoma cells.
J. Natl Cancer Inst., 48, 1531, (1972)

45. GRAY, L.H.
The initiation and development of cellular damage by ionizing radiations.
Brit. J. Radiol. 26, 609 - 618, (1953)

52. GROSCURTH, P., KISTLER, G.
Human renal cell carcinoma in "nude" mouse: long term observations.
Beitr. Path. 160, 337 - 360, (1977)

53. GROSCURTH, P., MÜNTENER, M., TÖNDURY, G.
The postnatal development of the thymus in the nude mouse. 1. Light microscopoc observations. In: RYGGARD, J., POVLSEN, C.O., (Hsg.): Proc. First Intern. Workshop Nude Mice.
G. Fischer Verl., Stuttgart, (1974)

54. HAIR, J.
The morphogenesis of thymus in nude and normal mice. In: RYGAARD, J., POVLSEN, C.O., (Hsg.): Proc. First Intern. Workshop on Nude Mice.
G. Fischer Verl., Stuttgart, (1974)

55. HALL, E.J.
Radiobiological measurements with 14 MeV neutrons.
Brit. J. Radiol. 42, 805 - 813, (1969a)

56. HALL, E.J.
Radiology for the radiologist
Harper & Row, Hagerstown, Second Edition (1978)

57. HALL, E.J., OLIVER, R.
Extreme hypoxia: its effect on the survival of mammalian cells irradiated at high and low dose - rates.
Brit. J. Radiol. 39, 302 - 307, (1966a)

58. HELSON, L., DAS, S.K., HAJDU, S.I.
Human neuroblastoma in nude mice.
Cancer Res. 35, 2594 - 2599, (1975)

59. HEWITT, H.B., BLAKE, E.R.
The growth of transplanted murine tumors in pre - irradiated sites.
Brit. J. Cancer 22, 808 - 824, (1968)

60. HEWITT, H.B., CHAN, D.P.S., BLAKE, E.R.
Survival curves for clonogenic cells of a murine keratinising squamous carcinoma irradiated in vivo or under hypoxic conditions.
Int. J. Radiat. Biol. 12, 535 - 549, (1967)

61. HOLDEN, H.T., HERBERMAN, R.B., SANTONI, A., NUNU, M.E.
Natural cell - mediated cytotoxicity in nude mice.
In: HOUCHENS, D.P., OVEJERA, A.A., (Hsg.): Proc. Symp. on the Use of Athymic (Nude) Mice. in Cancer Research.
G. Fischer Verl., New York, Stuttgart, (1978)

62. HOLTHUSEN, H.
Beiträge zur Biologie der Strahlenwirkung,Untersuchungen an Askarideneiern.
Pflügers Arch, ges. Physiol. 187, 1 - 24, (1921)

63. HOLUB, M., HAJDU, J., JAROSKOVA, L., TREBICHAVSKY, I.
Lymphatic tissues and antibody - forming cells of athymic nude mice.
Zschr. Immun. Forsch., 146, 322, (1974)

64. HOWARD-FLANDERS, P., MOORE, D.
The time interval after pulsed irradiation within which injury in bacteria can be modified by dissolved oxygen. I.A search for an effect of oxygen 0,02 seconds after pulsed irradiation.
Radiat. Res. 9, 422 - 437, (1958)

65. HUG, O., TROTT, K.R.
Biologische Grundlagen der Strahlenwirkung. In: LISSNER, J., HUG, O.: Radiologie I.
Ferdinand Enke Verl., Stuttgart, 34 - 36, (1980)

66. IKEDA, R.M., GERSHWIN, M.E., SHIFRINE,M., KAWAKAMI, T.G.
The kinetics and radiobiology of heterotransplanted human tumors in nude mice. In: HOUCHES, D.P., OVEJERA, A.A., (Hsg.): Proc. Symp. on the use of Athymic (Nude) Mice in Cancer Research.
G. Fischer Verl., New York, Stuttgart, (1978)

67. KALLMAN, R.F.
The phenomenon of reoxygenation and its implications for fractionated radiotherapy.
Radiology 105, 135 - 142, (1972)

68. KIM, D.K., KAKITA, A., CUBILLA, A., FLEISHER, M., FORTNER, M.
Unique features of serially transplantes human pancreatic cancer in nude mice.
Surg. Forum 27, 142 - 144, (1976)

69. KIM, U., HAN, T., GHOSH, S., SHIN, S., PRESSMAN, D.
Immunological mechanism of graft resistance to certain malignant tumors and prevention of metastasis by athymic nude mice. In: REED, N.D., (Hsg.): Proc. Third Intern. Workshop Nude Mice.
G. Fischer Verl., New York, Stuttgart , (1982)

70. KUMMERMEHR, J., TROTT, K.R.
Sensitization of a transplantable murine fibrosarkoma by partial synchronisation with hydroxyurea. In: Radiobiological Research and Radiotherapy, Vol 1., IAEA, Vienna, 426 - 442, (1977)

71. LAMBERTSON, C.J.
Physiological effects of oxygen inhalation at high partial pressure. In: Fundamentals of Hyperbaric Medicine, S. 17, Publication No. 1298 National Academy of Sciences, Washington, D.C., (1966)

72. LINDENBERGER, J.
Aspects of xenoggrafted tumors of the ear, nose and throat. Erschienen in BASTERT, G. et al. (Eds.) Thymusaplastic Nude Mice and Rats in Clinical Oncology G. Fischer Verlag, Stuttgart (1981)

73. LINDENBERGER, J., GANZER, U.
Heterotransplantation of human adenoid cystic carcinoma on thymusaplastic nude mice (nu / nu mice).
Arch. Oto - Rhino - Laryng. 215, 179 - 181, (1977)

74. LINDENBERGER, J., GANZER, U.
Heterotransplantationen menschlicher Tumoren aus dem HNO - Bereich auf thymusaplastische nackte Mäuse.
Arch. Oto - Rhino - Laryng. 216, 647, (1977)

75. LINDENBERGER, J., GANZER, U., FORTMEYER, H.P.
Die Heterotransplantation bösartiger Kopf- und Halsgeschwülste auf thymusaplastische nackte Mäuse.
Arch. Oto - Rhino - Laryng. 220, 117 - 128, (1978)

76. LOONEY, W.B., MAYO, A.A., ALLEN, P.M., MORROW, J.Y., MORRIS, H.R.
A mathematical evaluation of tumor growth curves in rapid, intermediate and slow growing rat hepatoma.
Br. J. Cancer, 27, 341, (1973)

76a. LOONEY, W.B., MAYO, A.A., ALLEN, P.M., MORROW, J.Y., MORRIS, H.R.
A mathematical evaluation of tumor growth curves in rapid, intermediate and slow growing rat hepatoma
Br. J. Cancer, 27, 341, (1973)

76b. LOONEY, W.B., TREFIL, J.S., SCHAFFNER, J.C., KOVACS, C.J., HOPKINS, H.A.
Solid tumor models for the assessment of different treatment modalities: radiationinduced changes in growth rate characteristic of a solid tumor model.
Proc. Nat. Acad. Sci., Vol. 72, 7, 2662 - 2666, (1975)

77. MATTERN, J., WAYSS, K., HAAG, D., KAUFMANN, M., TOOMES, H., VOLM, M.
The growth of human lung tumors in nude mice. In: BASTERT, G., FORTMEYER, H.P., SCHMIDT-MATTHIESEN, H., (Hsg.): Thymus aplastic Nude Mice and Rats in Clinical Oncology.
G. Fischer Verl., Stuttgart, New York, (1981)

78. MCNALLEY, N.J.
A comparison of the effects of radiation on tumor growth delay and cell survival. The effect of oxygen.
Brit. J. Radiol. 46,450 - 455, (1973)

79. MICHAEL, B.D., ADAMS, G.E., HEWITT, H.B., JONES, W.B.G., WATTS, M.E.
A posteffect of oxygen in irradiated bacteria: a submillisecond fast mixing study
Radiat. Res. 54, 239 - 251, (1973)

80.MILNE, N., HILL, R.P., BUSH, R.S.
Factors affecting hypoxic KHT tumor cells in mice breathing O_2, O_2 and CO_2, or hyperbaricoxygen with or without anaesthic.
Radiology 106, 663, (1973)

81. MOTTRAM, J.C.
Factor of importance in radiosensitivity of tumors.
Br. J. Radiol. 9, 606, (1936)

82. MUNRO, T.R., GILBERT, C.W.
The influence of the oxygen: nitrogen sensitivity ratio on theoretical dosecure relations.
Brit. J. Radiol 40, 619 - 626, (1967)

83. NENSA, R.
Die Verteilung DNA - synthetisierender Zellen in der Peripherie menschlicher Ore - Pharynx - Karzinome und in ihren Heterotransplantaten auf der thymusaplastischen nackten Maus.
Dissertation Universität Düsseldorf (1979)

84. NIAS, A.H.W., GREENE, D., FOX, M., THOMAS, R.L.
Effect of 14 MeV monoergetic neutrons on HeLa and P - 388 F cells in vitro.
Int. J. Rad. Biol. 13, 449 - 456 (1967)

85. OHSAWA, N., UEYAMA, Y., MORITA, K., KONDO, Y.
Heterotransplantation of human functioning tumors to nude mice. In: NOMURA, T. et al., (Hsg.):
Proc. Sec. Intern. Workshop Nude Mice.
G. Fischer Verlag, Stuttgart, New York (1977)

86. PANTELOURIS, E.M.
Abscence of the thymus in a mouse mutant.
Nature (London), 217, 370, (1968)

87. PANTELOURIS, E.M.
Thymic involution and ageing.
Exp. Gerontol, 17, 73, (1972)

88. PANTELOURIS, E.M.
Thymus involution and ageing.
Exp. Geontol., 8,169, (1973)

89. PANTELOURIS, E.M., HAIR, J.
Thymus dysgenesis in nude (nu / nu) mice.
J. Embryol. Exp. Morph., 24, 615, (1970)

90. PETRY, E.
Biochem. Z. 135, 353, (1923)

91. POVLSEN, C.O.
Heterotransplantation of human malignant melanomas to the mouse mutant nude.
Acta path. microbiol scand. Sect. A, 84, 9 - 16, (1976)

92. POVLSEN, C.O.
Heterotransplantation of humangastrointestinal tumors to nude mice. In: BASTERT, G., FORTMEYER, H.P., SCHMIDT-MATTHIESEN, H., (Hsg.)
Thymus aplastic Nude Mice and Rats in Clinical Oncology.
G. Fischer Verl., Stuttgart, New York, (1981)

93. POVLSEN, C.O., FIALKOW, P.J., KLEIN, G., RYGAARD, J., WIENER, F.
Growth and antigenic properties of a biopsy - derived Burkitts lymphoma in thymus - less (nude) mice.
Int. J. Cancer, 11, 30, (1973)

94. POVLSEN, C.O., RYGAARD, J.
Heterotransplantation of human adenocarcinoma of the colon and rectum to the mouse mutant nude. A study of nine consecutive transplantations.
Acta. path. microbiol. scand. Sect. A, 79, 159, (1971)

95. PUCK, T.T.
Action of X - rays on mammalian cells.
J. Exp. Med. 103, 653 - 660, (1956)

96. PUCK, T.T., CIECIURA, S.J.
Clonal growth of mammalian cells in vitro.
J. Exp. Med. 273 - 283, (1956)

97. PUCK, T.T., MARCUS, P.I.
A rapid method for viable ce l titration and clone production with HeLa cells in tissue culture: the effect of X - irradiated cells to supply conditioning factor.
Proc. Natl. Acad. Sci. 41, 432 - 437, (1955)

98. PUCK, T.T., MORKOVIN, D., MARCUS, P.I., CIECIURA, S.J.
Action of X - rays on mammalian cells. II. Survival curves from normal human tissues.
J. Exp. Med. 106, 485 - 500, (1957)

99. READ, J.
The effect of ionizing radiations on the broad bean root. X. The dependence of the x - ray sensitivity on dissolved oxygen.
Br. J. Radiol., 25, 89, (1952)

100. REID, L.M., HOLLAND, J., JONES, C., WOLF, B., NIWAYAMA, G., WILLIAMS, R., KAPLAN, N.O., SATO, G.
Some of the variables affecting the success of transplantation of human tumors into the athymic nude mouse. In: HOUCHES, D.P., OVEJERA, A.A., (Hsg.): Proc. Symp. On the Use of Athymic (Nude) Mice. in Cancer Research.
G. Fischer Verl., New York, Stuttgart, (1978)

101. REID, L.M., MINATO, N., BLOOM, B., JONES, C., HOLLAND, J.
Rejection of tumor cells by athymic nude mice. In: REED, N.D., (Hsg.): Proc. Third Intern. Workshop Nude Mice.
G. Fischer Verl., New York, Stuttgart (1981)

102. REID, L.M., SHIN, S.
Transplantation of heterologous endcrine tumor cells in nude mice. In: FOGH, J., GIOVANELLA, B.C.,

(Hsg.): The Nude Mouse in Experimental and Clinical Research.
Academic Press New York, San Francisco, London, (1978)

103: RIGDON, R.H., PACKCHANIAN, A.A.
Texas Rep. Biol. Med. 32, 711, (1974)
zit. n. EATON, 1977

104. ROFSTAD, E.K., BRUSTAD, T.
The radiosensitizing effect of metronidazole and misonidazole (Ro-07-0582) on a human malignant melanoma grown in the athymic mutant.
Brit. J. Radiology 51, 381 - 386, (1978)

105. RYGAARD, J.
Thymus & Self. Immunbiology of the mouse mutant nude.
F.A.D.L. Publishers, Copenhagen, and J. Willey & Sons, London (1973)

106. RYGAARD, J., POVLSEN, C.O.
Heterotransplantation of human malignant tumors to a mouse mutant nude.
Acta. Path. Microbiol. Scan. 77, 758 - 760 (1969)

107. RYGAARD, J., POVLSEN, C.O.
Bibliography of the Nude Mouse 1966 - 1976
G. Fischer Verlag, Stuttgart, New york, (1977)

108. SALOMON, J.C., BAZIN, H.
Low levels of some serum immunoglobulin classes in nude mice.
Eur. J. Clin. Biol. Res., 17, 880, (1972)

109. SCHLECHTWEG, K.
Zeitfaktoruntersuchungen der Strahlenwirkung auf das Harding - Passey - Melanom der Maus.
Dissertation Universität München, (1978)

110. SCHNEIDER, D.O., WHITMORE, G.F.
Comparative effects of neutrons and X - rays on mammalian cells.
Radiat. Res. 18, 286 - 306, (1963)

111. SHARKEY, F.E., BAINES-GREBNER, H.
Acceleration of mitotic activity in human tumors transplanted to nude mice. I : REED, N.D., (sg.): Proc. Third Intern. Workshop Nude Mice.
G. Fischer Verl., New York, Stuttgart, (1981)

112. SHARKEY, F.E., FOGH, J.M., HAJDU, S.I., FITZGERALD, P.J., FOGH, J.,
Experience in surgical pathology with human tumor growth in the nude Mouse. In: FOGH, J., GIOVANELLA, B.C., (Hsg.): The Nude Mouse in Experimental and Clinical Research.
Academic Press, New York, San Francisco, London (1978)

113. SHELDON, P.W., FOSTER, F.L., FOWLER, J.F.,
Brit. J. Cancer, 30, 560 - 565, (1974)

114. SHIMOSATO, Y., KAMEYA, T., NAGAI, K., HIROHASHI, S., KOIDE, T., HAYASHI, H., NOMURA, T.
Transplantation of human tumors in nude mice.
J. Natl. Cancer Inst. 56, 1251 - 1260, (1976)

115. SHIN, S., REID, L.C., COLBUS, P.C., KADISH, A.S., FLEISCHNER, N.
Development of transplantable functional endocrine tumor lines in nude mice. In: NOMURA, T. et al., (Hsg.): Proc. Sec. Intern. Workshop Nude Mice.

G. Fischer Verl. New York, Stuttgart, (1977)

116. SILVERMAN, J., CHAVANNES, J.M., RIGOTTY, J., ORNAF, M.
A natural outbreak of transmissible murine colonic hyperplasia in A / J mice.
Lab. Anim. Sc., 29, 209, (1979)

117. TAGUCHI, T., FUJITA, M., USUGANE, M.
Heterotransplantation of various human and canine tumors in nude mice. In: NOMURA, T. et al., (Hsg.): Proc. Sec. Intern. Workshop Nude Mice.
G. Fischer Verl., Stuttgart, New York, (1977)

118. TAMAOKI, N., ESAKI, K.
Electron microscopic observation of the thymic and lymph nodes of the nude Mouse. In: RYGAARD, J., POVLSEN, C.O., (Hsg.): Proc. First Workshop Nude Mice.
G. Fischer Verlag, Stuttgart, (1974)

119. TAMAOKI, N., HABU, S., SATO, T., AKATSUKA, A., OKUMURA, K., KASAI, M., SAITO, M., (1980)
Characterization and strain difference of natural killer cells in nude mice. In: REED, N.D., (Hsg.): Proc. Third Intern. Workshop Nude Mice.
G. Fischer Verl., New York, Stuttgart, (1981)

120. TANNOCK, F.
The relation between cell proliferation and the vascular system in a transplanted mouse mammary tumor.
Brit. J. Cancer 22, 258 - 273, (1968)

121. THOMLINSON, R.H.
An experimental method for comparing treatments of intact malignant tumors in animals and its application to the use of oxygen in radiotherapy.
Brit. J. Cancer 14, 555 - 576, (1960)

122. THOMLINSON, R.H.
Front. Rad. Ther. Onc. 3, (1968)

123. THOMLINSON, R.H., CRADDOCK, E.A.
The growth response of an experimental tumor to single doses of X - rays.
Brit. J. Cancer 21, 108 - 125, (1967)

124. THOMLINSON, R.H., GRAY, L.H.
The histological structure of some human lung cancers and the possible implications for radiotherapy.
Brit. J. Cancer 9, 539 - 549, (1955)

125. TODD, P.
Heavy - ion irradiation of cultered human cells.
Radiat. Res. suppl. 7, 196 - 207, (1967)

126. TOGUNAGA, T., YAMAMOTO, S.
Augmentation of host defence of nude mice against cancer. In: NOMURA, T. et al., (Hsg.): Proc. Sec. Intern. Workshop Nude Mice.
G. Fischer Verl., Stuttgart, New York, (1977)

127. VAN PUTTEN, L.M.
Tumor reoxygenation during fractioned radiotherapy. Studies with a transplantable osteosarcoma.
Eur. J. Cancer 4, 173 . 182, (1968)

128. VISFELDT, J., POVLSEN, C.O., RYGAARD, J.
Chromosome analysis of human tumors following heterotransplantation to the mouse mutant nude.
Acta path. microbiol. scand. Sect. A, 80, 169 - 176, (1972)

129. WILLIAMS, D.W., ADAMS, G.E., NETA, P.
Electron - affinic sensitization. VI. A pulse radiolysis and esr comparison of some 2- and 5-nitromidazoles.
Radiat. Res. 62, 407, (1975)

130. WILSON, C.W.
Possible implications of recent radiobiological observations for tumor - dose - fractionation schedules.
Radiology 77, 940 - 945, (1961)

131. WILSON, R.L., CRAMP, W.A., INGS, R.M.J.
Metronidazole ("Flagyl"): Mechanism of radiosensitization.
Int. Radiat. Biol. 26, 557, (1974)

132.WILSON, R.L., EMMERSON, P.T.
Reaction of triacetoneamine - N - oxyl with radiation - induced radicals from DNA and deoxyribonucleotides in aqueous solution. In: MOROSON, H.L., QUINTILIANI, M. (Hsg.): Radiation Protection and Sensitization, 73 - 79.
Taylor and Francis, London, (1970)

133. WORTIS, H.H., NEHLSAU, D., OWENS, J.J.
Abnormal development of the thymus in "nude" mice.
J. Exp. Med., 134, 681, (1971)

134. WRIGHT, E.A., HOWARD-FLANDERS, P.
The influence of oxygen on the radiosensitivity of mammalian tissues.
Acta. Radiol., 48, 26 - 32, (1957)

135.ZIPORI, D., TRAININ, N.
Defective capacity of bone marrow from nude mice to restore lethally irradiates recipients.
Blood, 42, 671, (1973)

Lebenslauf

Am 22.8.1954 wurde ich als Sohn des Musiklehrers Richard Müller und seiner Ehefrau Elisabeth, geb. George, in Ansbach geboren

1961 - 1966 Volksschule in Krefeld

1966 - 1975 Fichte - Gymnasium in Krefeld

Juni 1975 Reifeprüfung am Fichte - Gymnasium in Krefeld

Juli 1975 - Oktober 1976
Zivildienst an der Rheinischen Landesschule für Körperbehinderte

Oktober 1976 Aufnahme des Studiums der Zahnmedizin an der Universität Düsseldorf

Juli 1977 Naturwissenschaftliche Vorprüfung an der Universität Düsseldorf

Februar 1979 Zahnärztliche Vorprüfung an der Universität Düsseldorf

Oktober 1981 Zahnärztliche Prüfung an der Universität Düsseldorf

seit 1982 Assistenzarzt in Freier Praxis

Danksagung

Herrn Prof. Dr. K.H. Vosteen danke ich für die Möglichkeit zur Durchführung meiner Doktorarbeit im tumorbiologischen Labor der Hals - Nasen - Ohren Klinik.

Herrn Priv. Doz. Dr. J. Lindenberger danke ich für die Überlassung des Themas und für die Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit.

Zu Dank verpflichtet bin ich dem Direktor der Strahlenklinik der Universität Düsseldorf für die Erlaubnis, sämtliche Bestrahlungsversuche in den Räumlichkeiten der Strahlenklinik durchführen zu können.

Dem Leiter der Tierversuchsanlage Düsseldorf, Herrn Dr. Bieniek, danke ich für die Unterstützung bei der Tierhaltung der thymusaplastischen Mäuse.